

BEEINFLUSSUNG DER LEBERREGENERATION
DURCH NAHRUNGSENTZUG
UND EINGRIFFE AM ENDOKRINIUM

Hans-Georg WESEMANN

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554604_0038

Druck- und Verlagsanstalt

Werner Blasaditsch · 89 Augsburg · Theodor-Heuss-Platz 3 · Telefon (0821) 25563

Printed in Germany

AUS DEM PATHOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. M. Eder

BEEINFLUSSUNG DER LEBERREGENERATION
DURCH NAHRUNGSENTZUG UND EINGRIFFE AM ENDOKRINIUM

Inaugural Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Hans-Georg WESEMANN
aus Göttingen

München 1972



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Prof. Dr. Hartmut Rabes
Korreferent: Prof. Dr. Max Eder
Dekan: Prof. Dr. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 2. 1973

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	Seite	1
B. VERSUCHE		
Teil I KONTROLLVERSUCH: DNS-SYNTHESE NACH TEIL- HEPATEKTOMIE IN DER UNBEHANDELTEN RATTEN- LEBER		6
1. Allgemeine Veränderungen in der Leber nach Teilhepatektomie		6
2. Material und Methode		9
2.1. Tiere und Operation		
2.2. Autoradiographie und ^3H -Thymidin bei der autoradiographischen Technik		
2.3. Wahl von 6-Stunden-Intervallen zwischen den Einzelversuchen		
2.4. Technik der Auswertung		
3. Ergebnisse und Diskussion		14
4. Ausschaltung der Tagesrhythmik der DNS-Synthese und Mitoseaktivität		19
Teil II NAHRUNGSENTZUG UND DNS-SYNTHESE IN DER REGENERIERENDEN LEBER		
1. Einleitung		21
2. Material und Methode		23
3. Ergebnisse		24
3.1. Gewichtsverlauf bei Nahrungsentzug		
3.2. DNS-Synthese nach Teilhepatektomie		
4. Diskussion:		
Auswirkung des Hungers auf die Leberzelle		33
5. Zusammenfassung		42

Teil III DIE BEEINFLUSSUNG DER DNS-SYNTHESE IN DER
REGENERIERENDEN LEBER DURCH ORCHIDEKTOMIE

1. Einleitung	Seite 43
2. Material und Methode	
3. Ergebnisse	45
4. Diskussion:	
Orchidektomie und Leberregeneration	50
5. Zusammenfassung	56

Teil IV DIE BEEINFLUSSUNG DER DNS-SYNTHESE IN DER
REGENERIERENDEN LEBER DURCH ADRENALEKTOMIE

1. Einleitung	57
2. Material und Methode	58
3. Ergebnisse und Diskussion	60
3.1. Vorversuche	
3.2. Markierungsindex der Hepatocyten nach Adrenalektomie	
3.3. Die Wirkung von Glucocorticoiden und Adrenalektomie auf die Leberzellen	
3.3.1. Glucocorticoide und DNS-Synthese	
3.3.2. Glucocorticoide und Proteinmetabo- lismus	
3.3.3. Wirkung der Adrenalektomie auf Meta- bolismus und Morphologie der Leber	
3.3.4. ACTH-Einfluß auf DNS-Synthese	
3.3.5. DNS-Synthesehemmung durch Glucocor- ticoide	
4. Zusammenfassung	81

Teil V ÜBERLEGUNGEN ZUR TOPIK DNS-SYNTHETISIEREN-
DER HEPATOZYTEN NACH TEILHEPATEKTOMIE

1. Einleitung	Seite	82
2. Methode		84
3. Ergebnisse und Diskussion		87

Teil VI DER EINFLUSS DES WACHSTUMHORMONS (STH) AUF
DIE DNS-SYNTHESE IN DER REGENERIERENDEN
LEBER HYPOPHYSEKТОMIERTER RATTEN

1. Einleitung		89
2. Material und Methode		91
2.1. Tiere und Operation		
2.2. Die Substitution des STH		
3. Ergebnisse		94
4. Allgemeine Diskussion: Einfluß des STH		103
4.1. auf die Leberzelle		
4.2. auf die RNS		
4.3. auf die DNS		
4.4. Vorstellungen zum STH Wirkungsmechanismus		
4.5. Diskussion der Ergebnisse		
5. Zusammenfassung		116

C. ANHANG		118
-----------	--	-----

Überlegungen zur Initiation der Zellproliferation
in der Leber nach Teilhepatektomie

D. ALLGEMEINE ZUSAMMENFASSUNG		126
-------------------------------	--	-----

E. LITERATURVERZEICHNIS		I
-------------------------	--	---

Herrn Professor Dr. med. H. R A B E S - meinem Doktorvater - danke ich für die Themenstellung und Einführung in die experimentelle Arbeitsweise.

Für die technische Hilfestellung danke ich Frau E. Hajok, Fräulein R. Kerler und Herrn X. Aumüller sowie den Herren Dr. med. H.V. Tucek und P. Scholze für die zahlreichen Gespräche und Anregungen, die mir eine hilfreiche Unterstützung bei der Abfassung dieser Arbeit waren.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 51) durchgeführt.

A. EINLEITUNG

Regeneration ist gewebsspezifischer Zellersatz nach Zellverlusten. Sie kann im strengen Sinn nur von Zellen geleistet werden, die den ausgefallenen gleichwertig oder nahe verwandt sind. Geht eine Gewebeart völlig zugrunde und steht kein spezifisches undifferenziertes Blastem zur Verfügung, so ist eine Regeneration unmöglich. Während in den Geweben mit einem hohen physiologischen Zellverlust, wie Haut und Darmepithelien, nur umschriebene Zonen für die Neubildung spezifischer Zellen verantwortlich sind ('Wechselgewebe') und das Bindegewebe Zellverluste im allgemeinen nur durch unspezifische Zellneubildung ausgleichen kann (Reparation), ist im Gegensatz dazu in den parenchymatösen Organen, wie z.B. der Leber und der Niere, jede Einzelzelle in der Lage, Zellverluste durch Zellteilung gewebespezifisch auszugleichen. Kleine Gewebsverluste werden durch Proliferation der dem Defekt benachbarten Zellen gedeckt. Die Regulation dieses Vorganges scheint durch das betroffene Organ selbst ausgeübt zu werden. Bei größeren Zellverlusten eines parenchymatösen Organes beginnen sich die Zellen des gesamten Organes zu teilen und die ursprüngliche Gesamtmasse des Organes wiederherzustellen. In diesem Fall scheinen übergeordnete homöostatische Mechanismen das Wachstum zu regulieren. Wie dieser Wachstumsimpuls übermittelt und geregelt wird, ist bisher unklar.

Die Parenchymzellen der Leber weisen eine einheitliche parenchymale Struktur und eine kombinierte Fähigkeit exkretorisch, resorptiv und metabolisch zu arbeiten auf. Wegen ihrer starken regenerativen Potenz ist die Leber für die Untersuchung der Regenerationsmechanismen besonders geeignet.

Wie auch in anderen Geweben mit reversibel postmitotischem Zellbestand (Cowdry 1952) findet man in der ruhenden Leber unter physiologischen Bedingungen ein sehr geringes Ersatzwachstum (Schultze und Oehlert 1960, Kramsch et al. 1963). In der Leber adulter Ratten befinden sich nur etwa 0,0 - 0,2 % der Parenchymzellen in der Mitosephase (Hemingway u. Cater 1958, Grisham 1962, Stöcker et al. 1964 u.a.). Eine Mitose auf 10 - 20.000 Zellen genügt, um den Zellverlust pro Zeiteinheit auszugleichen (Cater et al. 1956, Bucher 1967). 0,1 - 0,26 % der Hepatozyten sind bei der adulten Rattenleber in der DNS-Synthese- (S-) Phase, wie aus autoradiographischen Untersuchungen nach Kurzmarkierung mit Thymidin-³H hervorgeht (Grisham 1962, Oehlert et al. 1962, Stöcker et al. 1964 u.a.).

Bei oberflächlicher Verletzung der Leber treten nach 24 - 48 Stunden Mitosen nur im Verletzungsbereich auf (Weinbren 1959) und erst bei größeren Parenchymverlusten findet sich mit dem Anstieg der DNS-Synthese und der Mitoserate im gesamten Leberparenchym eine generalisierte Proliferation (v.Podwysoczki 1886, Weinbren 1959, Bucher und Swaffield 1964, u.a.).

Die Entwicklung einer Standardoperation zur 2/3 Teilresektion der Rattenleber durch HIGGINS und ANDERSON (1931) mit der Entnahme von 68 ± 2 % (Brues et al. 1936, Bucher und Swaffield 1964, Bucher 1967) ermöglichte reproduzierbare Untersuchungen zum Verlauf der Mitoserate und in neuerer Zeit zur DNS-Synthese in der regenerierenden Leber. 12 - 15 Stunden nach Teilresektion von 2/3 der Leber beginnt die DNS-Synthese, wie erstmals am Einbau von ³²P in die DNS nachgewiesen wurde (Nygaard und Rush 1955). Bis zu diesem Zeitpunkt konnte keine Netto-Zunahme der DNS gefunden werden (Lieberman und Kane 1965). Der Beginn der DNS-Synthese ist altersabhängig und variiert zwischen 12 - 18 Stunden

nach Op. (Hecht und Potter 1956, Grisham 1962, Bucher et al. 1964, Rabes 1967, Fabrikant 1968 u.a.). Die maximale Zahl DNS-synthetisierender Hepatozyten ist zwischen 20 - 26 Stunden nach Teilhepatektomie erreicht (Hecht und Potter 1956, Harkness 1957, Bucher 1963, Bucher et al. 1964, Stöcker 1966, Rabes und Brändle 1969, Rizzo et al. 1971). Die höchste Mito-seaktivität findet sich 26 - 33 Stunden nach der Operation und folgt damit 6 - 8 Stunden dem Maximum der DNS-Synthese (Cater et al. 1956, Weinbren 1959, Grisham 1962, Hemingway 1964, Bucher 1967, Fabrikant 1968). Drei Tage nach Teilhepatektomie hat das Lebergewicht nahezu den Ausgangswert erreicht und die Regeneration ist etwa 10 Tage nach der Operation abgeschlossen (Franseen et al. 1938, Higgins und Ingle 1939, Weinbren 1959, Fabrikant 1968).

Für die Auslösung dieses Vorganges werden humorale (Horváth und Kovacs 1956, Glinos 1960, Grisham et al. 1966, Moolten und Bucher 1967, Echave Llanos et al. 1971 b, ausführliche Literatur bei Rabes 1967), mechanisch-hämodynamische (Mann 1940, Weinbren 1955, Lieberman et al. 1965, Tsukada und Liebermann 1965), nervale (Clerici et al. 1964, Mocarelli et al. 1966) und funktionelle Faktoren diskutiert. Nach neuester Auffassung handelt es sich mit größter Wahrscheinlichkeit um humorale Faktoren (Moolten und Bucher 1967, Rabes 1967, Schindler 1969).

Durch zahlreiche Versuche ließ sich der skizzierte Verlauf der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber modulieren. Die Abhängigkeit vom Alter (Bucher et al. 1964, Heine und Stöcker 1970) wurde bereits erwähnt, Bedeutung haben aber auch die Menge des resezierten Lebergewebes (Bucher und Swaffield 1964, Tsukada und Liebermann 1964a, 1964b, 1965, Heine und Stöcker 1968), die Ernährungsbedingungen (Di Ste-

fano und Diermeier 1959, Doljanski et al. 1966, Becker und Lane 1966, auch Bucher 1963) und der hormonale Status (Franseen et al. 1938, Berman et al. 1947, Horváth und Kovacs 1956, Rabes et al. 1965b).

In diesem Zusammenhang konnte festgestellt werden, daß nach einer Teilhepatektomie bei hypophysektomierten Ratten der DNS-Synthesebeginn, das DNS-Synthesemaximum und die maximale mitotische Aktivität zeitlich verspätet einsetzen und somit die Regeneration insgesamt verzögert ist (Higgins und Ingle 1939, Weinbren 1959, Rabes et al. 1965a, 1965b, Brändle 1966, Rabes 1967, Rabes und Brändle 1968, 1969). Die Ursache dafür kann sowohl der Ausfall eines bestimmten Hormons des Hypophysenvorderlappens (HVL) oder einer bestimmten Hormonkombination, Zusammenbruch der Reglerkreise zwischen HVL und peripheren Organen oder Folge des nach Hypophysektomie zu beobachtenden Wachstumsstillstandes sein.

Durch folgende vier Versuchsanordnungen soll diese Frage geklärt und die Bedeutung hormoneller Faktoren für den Ablauf der Regeneration in der Rattenleber nach partieller Ektomie betrachtet werden:

Einfluß des Nahrungsentzuges auf die DNS-Synthese der Hepatozyten nach 2/3 Hepatektomie (Teil II);

Einfluß der Kastration auf die DNS-Synthese der Hepatozyten nach 2/3 Hepatektomie (Teil III);

Einfluß der Adrenalektomie auf die DNS-Synthese der Hepatozyten nach 2/3 Hepatektomie unter Berücksichtigung der intralobulären Lokalisation der DNS-synthetisierenden Hepatozyten (Teil IV);

Einfluß des Wachstumshormons auf die DNS-Synthese der Hepatozyten nach 2/3 Hepatektomie in hypophysektomierten Ratten (Teil VI).

Abschließend wird in einem Anhang (C) die regenerationsbeeinflussende Wirkung einiger Veränderungen nach Teilhepatektomie und von Hormonen auf die regenerativen Vorgänge nach Teilhepatektomie untersucht.

B. VERSUCHE - Teil I

Kontrollversuch: DNS-SYNTHESE NACH TEILHEPATEKTOMIE IN DER UNBEHANDELTEN RATTENLEBER

1) Allgemeine Veränderungen in der Leber nach Teilhepatektomie

Eine Teilresektion der Leber gesunder Ratten führt zu typischen morphologischen und biochemischen Veränderungen der verbleibenden Zellen. Die Hepatocyten, die sich in der G_0 - bzw. Ruhephase befinden, werden stimuliert, in den Zellzyklus einzutreten (Fabrikant 1968). Es zeigt sich ein Verlust basophiler Schollen (=RNS-Protein-Komplexe) bei zunehmender diffuser Basophilie des gesamten Zytoplasmas (Glinos 1958, Weinbren 1959). Als weitere früheste Zytoplasmareaktion tritt ein Leberglykogenverlust auf und 12 Stunden nach Teilhepatektomie ist kein Leberglykogen, das vorrangig zur Aufrechterhaltung des Blutglucosespiegels verwandt wird (Ganong 1971), mehr nachweisbar (Harkness 1957, Weinbren 1959, Fujioka et al. 1963, Bucher 1967). Demgegenüber beginnt gleichzeitig eine Einlagerung sudanophiler Substanzen, vorwiegend Neutralfette, eine Schwellung der Mitochondrien, Zunahme des Zytoplasma-, Nucleus- und Nucleolusvolumens (Weinbren 1959). Es finden sich weiter eine Steigerung der elektrophoretischen Beweglichkeit der Zellen, bedingt durch den Verlust von Intrazellulärbrücken, Zunahme der Lysosomenzahl, vornehmlich von Autophagolysosomen mit zellulärem Material verschiedener Abbaustufen, und Umwandlung des rauen in glattes endoplasmatisches Retikulum, entsprechend einer Lösung der Ribosomen von den Membranen (Weinbren 1959, Becker und Lane 1965, 1966, Doljanski et al. 1966, Lane und Becker 1966, Übersicht bei Grundmann und Seidel 1969).

Diesen morphologischen Veränderungen entsprechen Veränderungen des Protein und Enzymbesatzes der Zellen. TSUKADA und LIEBERMAN (1964a) postulieren eine Verbindung von Enzym-Anstieg, nRNS-Bildung und zytoplasmatischer RNS-Bildung. Sie fanden sofort nach dem operativen Eingriff einen Anstieg der nukleären und nukleolären RNS-Polymerase. Andere Autoren berichten ebenfalls über sofortigen Anstieg der nucleolären RNS (Bucher 1967), langsam beginnende Protein-Nettozunahme pro Zelle und eine Aktivitätszunahme der für die Nucleinsäuresynthese notwendigen Enzyme (Bucher 1967, Rabes et al. 1965a). Dabei läßt sich feststellen, daß der Enzymanstieg parallel zu der Menge des entfernten Gewebes verläuft. TSUKADA und LIEBERMAN (1964b) glauben, daß die Zunahme der Enzymaktivität Folge einer vermehrten Enzymneosynthese ist.

Bestimmte Enzyme, wie z.B. die Ornithin-Decarboxylase, der durch ihren begrenzenden Einfluß auf die Polyamin-Biosynthese (und damit Bildung und Stabilität der RNS) von verschiedenen Autoren Bedeutung für die Regulation der regenerativen Prozesse zugeschrieben wird, zeigen einen maximalen Aktivitätsanstieg 4 Stunden nach der Teilhepatektomie (Dykstra et al. 1965, Russel und Snyder 1969, Schrock et al. 1970, Fausto 1971). Die für die DNS-Synthese repräsentativen und normalerweise nur sehr gering vorhandenen Enzyme wie die Thymidylat-Kinase, die TMP-Synthetase, CMP-Deaminasen weisen unmittelbar vor Beginn der DNS-Synthese eine erhebliche Aktivitätssteigerung auf (Bucher 1967, Fast et al. 1970).

Bisher ist die Reihenfolge der Syntheseschritte bis zur DNS-Replikation unklar. In Hemmversuchen mit Actinomycin D konnte nachgewiesen werden, daß vor dem Beginn der DNS-Synthese eine vorbereitende Steigerung der RNS-Synthese erforderlich ist (Lit. bei Grundmann und Seidel 1969).

Für diese Annahme sprechen auch die Ergebnisse von RABES und BRÄNDLE (1968), die bei den beiden Maxima der RNS-Syntheseaktivität 2 und 27 Stunden nach Teilhepatektomie in der Leber hypophysektomierter Ratten zwei grundsätzlich verschiedene Verteilungstypen RNS-synthetisierender Hepatozyten in den Leberlobuli fanden. Der gleichmäßigen Stimulierung der RNS-Synthese aller Leberparenchymzellen im Anschluß an die Leberresektion, steht die acinoperiphere Anhäufung der RNS-synthetisierenden Zellen in dem gleichen Abschnitt der Lobuli gegenüber, in denen die DNS-Synthese kurz danach beginnt (s.a. Fabrikant 1968, Tuczek 1970; über Fragen der Topik siehe Teil V).

Die beschriebenen allgemeinen zellulären Mechanismen, die bis zum Beginn der DNS-Synthese ablaufen, sind vielfach modifizierbar (Bucher 1967). In der vorliegenden Arbeit soll mit morphologisch-autoradiographischen Methoden die Beeinflussung des Ablaufes der DNS-Synthese unter verschiedenen Bedingungen geklärt werden. Als normale Kontrolltiere diente dabei eine Gruppe von 270 - 300 Gramm schweren teilhepatektomierten Albinoratten. Tiere dieser Gewichtsklasse entsprechen altersmäßig den Ratten, die im Versuch Teil V und in den Arbeiten von BRÄNDLE (1966) und RABES und BRÄNDLE (1968) einer Hypophysektomie unterzogen wurden. Die Gewuchtsdifferenz erklärt sich aus der Gewichtsabnahme innerhalb von 4 Wochen zwischen Hypophysektomie und nachfolgender Teilhepatektomie, bzw. der konstanten Gewichtszunahme der nicht hypophysektomierten Tiere im gleichen Zeitraum.

2. Material und Methode

2.1) Tiere und Operation

20 männliche Wistarratten mit einem Gewicht von 270 - 300 g (mittleren Gewicht 283 g) wurden einer 2/3-Teilhepatektomie nach HIGGINS und ANDERSON (1931) unterzogen. Die Tiere wurden in Äthernarkose durch Gummizüge mit dem Rücken auf einem Operationsbrett befestigt. Nach Desinfektion der Haut wurde die Bauchhöhle durch einen Medianschnitt in der linea alba eröffnet und die Leber mobilisiert. Der mittlere und linke seitliche Leberlappen wurde dicht am Leberhilus abgebunden und reseziert. Nach Säuberung der Bauchhöhle von Blut- und Fibrinresten wurde die Bauchdecke getrennt durch fortlaufende Nähte verschlossen. Postoperativ erhielten die Tiere weiterhin Altromin^R Standarddiät und Wasser ad libitum.

Sowohl vor als auch nach der Operation wurden die Tiere in Macrolonkäfigen bei konstanter Temperatur und natürlichem Tag-Nacht-Rhythmus gehalten.

In Gruppen zu je 5 wurden die Tiere 18, 24, 30 und 36 Stunden nach der Operation jeweils zwischen 10.30 und 11.30 h durch Nackenschlag getötet. Die Leber wurde entnommen und in Formalin fixiert.

2.2) Autoradiographie und ^3H -Thymidin bei der autoradiographischen Technik

Thymidin-6- ^3H (TdR^3H) wird in Zellen eingebaut, die sich in der S-Phase des Generationszyklus befinden, und ist ein spezifischer Vorläufer für neugebildete DNS. Gabe von TdR^3H initiiert oder stimuliert nicht den Einbau von Thymidin in die DNS und hat keinen Einfluß auf Ablauf und Häufigkeit der Mitosen (Amano et al. 1959,

Mc Donald 1961, Pelc und Appleton 1965). Dies gilt, solange eine Dosis $1\mu\text{Ci/g}$ Körpergewicht nicht überschritten wird.

Die Autoradiographie ermöglicht es, die Zahl derjenigen Zellen einer gegebenen Population zu bestimmen, die sich zum Zeitpunkt der Injektion in der DNS-Synthesephase (S) befinden (TdR^3H -Markierungsindex). Das Präparat wird nach Fixierung auf einen Objektträger gebracht und mit einer Fotoschicht überzogen. Diese Fotoschicht zeigt nach einer genügend langen Belichtungszeit Silberkörner an den Stellen, an denen das radioaktive Isotop inkorporiert wurde. Nach Entwicklung des Präparates kann es gefärbt werden. Die mikroskopische Betrachtung erlaubt eine genaue Differenzierung der Zellen und eine Zuordnung der Silberkörner zu Zellstrukturen, in diesem Fall besonders zu den Zellkernen. Als markierte Zellkerne wurden nur die Kerne aufgefaßt, bei denen die Silberkorndichte mindestens um den Faktor 3 höher war als im back-ground. Die Unterscheidung der Hepatozytenkerne von Bindegewebszellkernen erfolgte nach histologischen Gesichtspunkten. Nach BUCHER (1963) sind etwa 65 % der Leberzellen Hepatozyten und etwa 35 % 'Nicht'-Hepatozyten.

Die Bestimmung des Mitose-Index, d.h. Bestimmung der Leberzellen in der Mitosephase pro Gesamtzellzahl hat gegenüber der autoradiographischen DNS-Bestimmung den Nachteil der größeren Ungenauigkeit, ist doch, bedingt durch die verschieden lange Phasendauer der M- und der S-Phase, die Anzahl der markierten Kerne in der S-Phase im Mittel etwa zehnmal größer als die Zahl der beobachtbaren Mitosen (Schultze und Oehlert 1960, Bucher 1963).

Die Tiere aller Versuche erhielten 60 min. vor dem Tötungszeitpunkt $0,8 \mu\text{Ci}$ Thymidin- $6\text{-}^3\text{H/g}$ Körpergewicht (spez. Aktivität $5,0 \text{ Ci/mM}$, Radiochemical Centre Amersham, England) intraperitoneal injiziert. Die Konzentration betrug $200 \mu\text{C/ml}$ Salzlösung nach Hanks. Die Verfügbarkeitszeit des TdR^3H beträgt 40 - 60 min. (Stöcker 1966). Daher wurden die Tiere 60 min. nach der Injektion getötet. Für die Markierung erweist es sich als günstig, den Injektionsort möglichst nahe an das zu untersuchende Gewebe zu legen (Pelc und Appleton 1965).

Aus diesem Grund wurde die intraperitoneale Applikationsform gewählt. Nach Behandlung der entparaffinierten Schnitte mit inaktivem Thymidin wurden Autoradiographien mit Stripping Film Kodak AR 10 (Exposition bei 4°C 20 Tage) oder Ilford Emulsion K 2 (Exposition bei 4°C , 21 Tage) angefertigt.

2.3) Wahl von 6-Stunden-Intervallen zwischen den Einzelversuchen

In allen beschriebenen Versuchen wurde ein zeitlicher Abstand von 6 Stunden zwischen den einzelnen Operationszeitpunkten gewählt, die Tiere wurden 18, 24 usw. Stunden nach der Teilhepatektomie getötet. Dadurch sollte erreicht werden, daß alle Hepatozyten, die im Untersuchungszeitraum DNS synthetisieren, mit radioaktivem Thymidin markiert werden konnten. Die Länge der S-Phase, die bei normalen adulten Ratten für Hepatozyten etwa 18 Stunden beträgt (Heine und Stöcker 1968), verkürzt sich während der ersten Regenerationswelle nach Teilhepatektomie auf etwa 7,2 Stunden (Stöcker 1966, Stöcker und Pfeifer 1965, Heine und Stöcker 1968, Heine und Stöcker 1970). Diese Umschaltung von einem 'langsamen' auf einen 'schnellen' Proliferationsmodus mit einer S-Phasen-Dauer, wie sie bei sehr

jungen Tieren ebenso wie in schnell proliferierenden Geweben - Darmepithelien, Knochenmarkszellen, bestimmten Tumoren - regelmäßig gefunden wird (Stöcker 1966), tritt nach Entfernung von 2/3 des Lebergewebes mit Sicherheit ein (Heine und Stöcker 1968).

Durch diese Verkürzung der S-Phase wird die DNS-Syntheserate um den Faktor 2 gesteigert. Im weiteren Verlauf der regenerativen Prozesse geschieht dann abermals die Umstellung auf den langsamen Proliferationsmodus des reinen Ersatzwachstums (Stöcker 1966).

Bei der S-Phasendauer von etwa 7,2 Stunden ist demnach durch 6-stündige Intervalle zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten sichergestellt, daß alle DNS-synthetisierenden Hepatozyten als Thymidin³H-markiert erfaßt werden.

2.4) Technik der Auswertung

Die entwickelten und gefärbten Präparate wurden bei meanderförmiger Verschiebung mit 650-facher Vergrößerung (Objektiv 50 x, Tubusfaktor 1,25 x, Okular 10 x) beurteilt. Zur Ausschaltung des Zählfehlers wurden von jedem Präparat (entsprechend einem Tier) getrennt 7 x 1000 Hepatozyten ausgezählt und die Anzahl der durch Silberkörner markierten DNS-synthetisierenden Hepatozyten bestimmt. Das Verhältnis der markierten zur Gesamtzahl der ausgezählten Hepatozytenkerne wird als (TdR³H) Markierungsindex bezeichnet. In der statistischen Auswertung wurde dann der Mittelwert aus n = 7 verwendet, und durch die Berechnung der Standardabweichung (s) wurde die Größe des Zählfehlers beurteilt.

Die Berechnung der Standardabweichung geschah nach der Formel:

$$sx = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Der mittlere Markierungsindex des Einzeltieres wurde dann zur Berechnung des Markierungsindex einer Gruppe zu einem bestimmten Zeitpunkt verwendet. Berechnet wurde für diese Gruppe der Mittelwert:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

Die Standardabweichung sx (siehe oben) und die mittlere Abweichung vom Mittelwert:

$$s\bar{x} = \frac{sx}{\sqrt{n}}$$

Die Signifikanz der Differenzen wurde nach Student (t - Test) berechnet.

3. Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 1 zeigt die Markierungsindices der Kontrollgruppe. Einzelwerte, Mittelwerte, Standardabweichung und mittlere Fehler vom Mittelwert sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1: TdR³H-Markierungsindices mit Standardabweichung und mittlerer Abweichung vom Mittelwert bei Ratten der Gewichtsklasse 270 - 300 Gramm.

Zeit nach Teilhepat- ektomie	18	24	30	36
	3.68 %	21.25 %	11.61 %	17.27 %
	4.81	22.27	11.57	10.32
	2.20	28.00	11.90	12.30
	0.92	11.98	10.28	13.90
	5.65	31.35	7.80	6.61
n	5	5	5	5
$\bar{x}$	3.45 %	22.97 %	10.63 %	12.08 %
sx	± 1.92	± 7.41	± 1.71	± 3.97
s $\bar{x}$	± 0.85	± 3.31	± 0.76	± 1.77

n = Anzahl der Tiere

$\bar{x}$ = Mittelwert

sx = Standardabweichung

s $\bar{x}$ = mittlere Abweichung vom Mittelwert

KONTROLLVERSUCH

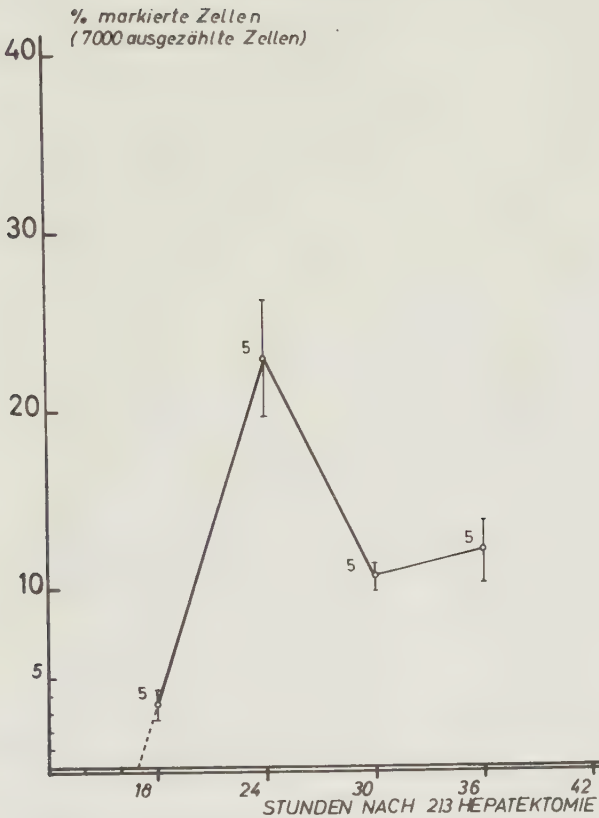


Abbildung 1: DNS-Synthese in der regenerierenden Leber 270 - 300 g schwerer Ratten in Abhängigkeit von der Zeit nach Teilhepatektomie. Prozent Thymidin-6-3H markierter Zellen (7.000 ausgezählte Hepatozyten). Mittelwert innerhalb einer Gruppe(0), Anzahl der Tiere an den Kurvenpunkten. Vertikale Linien: Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Beginn und Maximum der DNS-Synthese bei 270 - 300 g schweren Tieren entsprechen den Ergebnissen früherer Untersuchungen (Bucher et al. 1964). Der Kurvenverlauf ähnelt der DNS-Synthesekurve bei jüngeren Tieren (Brändle 1966, Rabes 1967). Nach Erreichen des Synthesemaximums jedoch zeigen sich Unterschiede in der Syntheseaktivität bei jüngeren gegenüber älteren Tieren. Zwar sinkt die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen auch hier wieder und ist 30 Stunden nach der Teilhepatektomie in beiden Fällen niedriger als nach 24 Stunden, fällt bei den älteren Tieren dann aber nicht weiter ab, sondern steigt etwas an und ist nach 36 Stunden gegenüber 30 Stunden leicht erhöht. Die Anzahl der Zellen, die sich zum DNS-Synthesemaximum in der S-Phase befinden, stimmt mit den bekannten Ergebnissen überein (Rabes 1967, Rabes und Brändle 1969). CATER und Mitarbeiter (1956), die die DNS-Synthese nach Teilhepatektomie ebenfalls an 300 g schweren Ratten untersuchten, fanden ein erstes Synthesemaximum 24 Stunden nach dem Eingriff und beobachteten nach 35 Stunden ein zweites Synthesemaximum. Aus dem hier vorliegenden Material läßt sich nicht ablesen, ob die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen später als 36 Stunden nach der Operation weiter ansteigt oder sinkt, es kann also nicht ausgesagt werden, ob 36 Stunden nach dem Eingriff ein zweites Synthesemaximum auftritt.

Die meisten Untersuchungen der DNS-Synthese sind aber an jüngeren und damit leichteren Tieren durchgeführt worden. BUCHER und Mitarbeiter (1964) untersuchten erstmals quantitativ den Einfluß des Alters auf den Ablauf der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie. Ihre Ergebnisse gibt Abb. 1a wieder. Bei Tieren aller Altersgruppen liegt der Beginn der DNS-Synthese bei 15 - 17 Stunden nach der Operation. Der

Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese liegt aber mit zunehmendem Alter später, die Anzahl der Zellen, die sich zu diesem Zeitpunkt dann in der S-Phase befinden, nimmt ebenfalls mit zunehmendem Alter ab. HEINE und STÖCKER (1970) untersuchten die DNS-Synthese seniler Ratten und fanden, daß die Zahl der Zellen der sogenannten 'growth fraction' mit zunehmendem Alter abnimmt und die Karyokinese häufiger durchlaufen müssen, daß sich also an den ersten Generationszyklus ein zweiter direkt anschließt. Der in diesem Versuch beobachtete geringe zweite Anstieg der Zahl DNS-synthetisierender Zellen läßt sich aber sicher nicht auf diese Weise erklären. STÖCKER und PFEIFER (1967) fanden, daß die erste parenchymatöse Regenerationswelle von einer Zellpopulation getragen wird, die nur einmal S, G₂ und M passiert. Der gleichbleibend hohe Markierungsindex 30 und 36 Stunden nach Teilhepatektomie kann daher eher Folge eines uneinheitlichen Tiermaterial sein. Während ein Teil der Tiere einem eher jugendlichen DNS-Synthesetyp zuzuordnen wären, ließe die DNS-Synthese des anderen Teils nach dem Synthesemuster älterer Tiere ab. Der gefundene DNS-Syntheseverlauf würde sich demnach aus zwei Komponenten zusammensetzen. Insgesamt jedoch stimmt der Kurvenverlauf mit seinem DNS-Synthesebeginn 17 Stunden nach der Teilhepatektomie, dem Synthesemaximum nach 24 Stunden, dem Markierungsindex von 22 % und dem nachfolgenden Abfall auf 10 %, 30 Stunden nach der Operation, mit den bekannten Ergebnissen überein (Bucher et al. 1964, Brändle 1966, Bucher 1967, Rabes 1967, Fabrikant 1968, Rabes und Brändle 1969 u.a.).

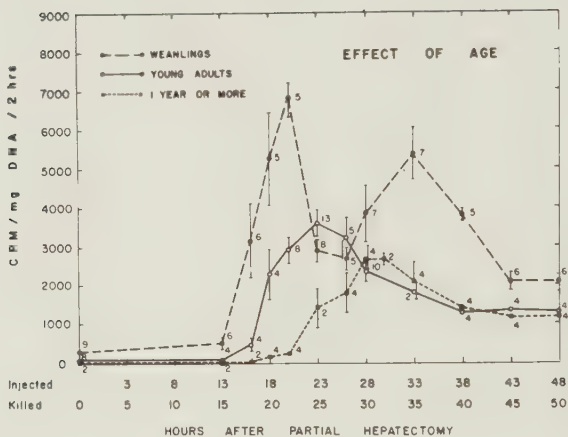


Abbildung 1a:

Darstellung der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie bei Tieren verschiedenen Alters
(nach Bucher und Mitarbeiter 1964)

4. Ausschaltung der Tagesrhythmik der DNS-Synthese und Mitoseaktivität

Auf das Phänomen der tageszeitlichen Schwankungen in der Mitosehäufigkeit wurde zuerst von JAFFÉ (1954) aufmerksam gemacht. Aus seinen und späteren Untersuchungen ergibt sich, daß die Mitose-Aktivität in der Leber von kleinen Nagern in den frühen Morgenstunden am höchsten ist und gegen Abend absinkt (Wilson 1954, Peters 1962). Gleiches gilt für die DNS-Synthese in der regenerierenden Leber, wo sich eine maximale DNS-Synthese 6 Uhr morgens findet, die gegen Abend geringer wird, um dann in der Nacht wieder anzusteigen (Peters 1962, Fabrikant 1968). Die diurnalen Schwankungen sind bei jüngeren Tieren stärker ausgeprägt als bei älteren, sollen aber auch bei Ratten, die schwerer als 150 g sind, noch nachweisbar sein (Wilson 1948, Peters 1962). Bei Ratten mit höherem Körpergewicht als 240 g ist die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen immer gleich (Stöcker et al. 1964). Da z.B. durch den Einfluß der Tagesrhythmik 48 Stunden nach einer Teilhepatektomie die Mitosewerte vormittags wesentlich höher liegen als in den Abendstunden, mag das eine Erklärung für widersprüchliche Angaben über Zeitpunkt und Höhe der maximalen DNS-Synthese- und Mitose-Aktivität sein. Die initiale Teilungswelle nach partieller Hepatektomie läuft zwar unabhängig von der Tageszeit des Eingriffes und der Tötung im gleichbleibenden Abstand von der Operation, mit einem Mitosemaximum nach 32 Stunden ab, aber die Höhe dieses Maximums ist abhängig von der Tageszeit (Klinge und Mathyl 1969). Mögliche tageszeitliche Schwankungen der Mitose-Rate und auch der DNS-Synthese können vermieden werden, wenn die Tötung immer zur gleichen Tageszeit erfolgt. Die Operation muß dann zu variablen Tageszeiten ausgeführt werden. In

den Versuchen, über die berichtet wird, wurden die Tiere dementsprechend zur gleichen Tageszeit, vormittags zwischen 10.30 und 11.30 h, getötet, nachdem sie 12, 18, 24, 30, 36 und 42 Stunden vorher operiert worden waren (s.a. Rabes 1967, Tuczek 1970 u.a.). Durch diese Standardisierung der Versuchsanordnung ist der Einfluß der Tagesrhythmik ausgeschaltet und die Ergebnisse sind untereinander vergleichbar.

VERSUCHE - Teil II

NAHRUNGSENTZUG UND DNS-SYNTHESE IN DER REGENERIERENDEN LEBER

1. Einleitung

Die Regeneration von Lebergewebe nach partieller Hepatektomie läuft bei hypophysektomierten Ratten langsamer ab als bei normal ernährten Kontrollratten, bei denen nach etwa 3 Tagen der größte Teil des entnommenen Gewebes ersetzt ist (Franseen et al. 1938, Higgins und Ingle 1939). Da die Nahrungsaufnahme hypophysektomierter Ratten gegenüber ad libitum gefütterten Kontrolltieren um 35 - 40 % vermindert ist (Di Stefano und Diermeier 1959), liegt es nahe, den Ernährungszustand für diese Verzögerung der Regeneration verantwortlich zu machen. Der Nahrungsmangelzustand der hypophysektomierten Tiere könnte zu derselben Einschränkung der Regenerationskapazität führen, die auch bei hungernden Ratten gegenüber gefütterten Kontrollen gesehen wurde (Higgins und Anderson 1931, Brues et al. 1936, Franseen et al 1938, Higgins und Ingle 1939). Hypophysektomie und Hunger bewirken an der Leberzelle teilweise gleiche Veränderungen wie Verringerung der Gesamtlebermasse und -gewicht, Verlust der Glykogenspeicher, Verlust der Fettspeicher, Abnahme des Protein- und RNS-Gehaltes bei konstantem DNS-Gehalt (Franseen et al. 1938, Harrison 1953, Weinbren 1959, Di Stefano und Diermeier 1959). DI STEFANO und Mitarbeiter (1955) führen diese Veränderungen des Lebergewebes nach Hypophysektomie bei erhaltener regenerativer Potenz (Weinbren 1959) auf ungenügende Nahrungsutilisation zurück. Wenn auch die Regeneration insgesamt verzögert abläuft, so bleibt doch der Regenerationsstimulus als solcher unbeeinflusst (Franseen et al. 1938) und der um 15 Stunden verspätet einsetzende Anstieg der Zahl DNS-synthetisie-

renden Zellen erreicht die gleichen Werte wie bei Kontrolltieren (Rabes 1969, Rabes und Brändle 1969). Auch in Abwesenheit der Hypophyse ist eine Regeneration der Leber nach Teilhepatektomie möglich, die Verzögerungen könnten also lediglich hungerbedingte Modifizierungen sein. Demgegenüber stellten DOLJANSKI und Mitarbeiter (1966) fest, daß zumindest kurzfristiger Nahrungsentzug keine Verzögerung der Leberregeneration bewirkt, bzw. keinen Einfluß auf den Beginn der DNS-Synthese nach der Operation hat (Simek et al. 1970; für nicht vollständigen Nahrungsentzug s.a. Perez-Tamayo et al. 1953). Die Leberregeneration bei Hungertieren, gemessen an Mitosen und Gewebersatz, läuft im selben Ausmaß und nach gleichem Schema ab wie bei normal gefütterten Ratten (Doljanski et al. 1966, Becker und Lane 1966).

Die vorliegende Versuchsanordnung soll die Frage klären, ob exzessiver Nahrungsentzug den zeitlichen Ablauf und die Höhe der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie beeinflußt und ob damit die mangelnde Nahrungsaufnahme eine Ursache des verzögerten DNS-Synthesebeginns in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Ratten sein kann.

2. Material und Methode

29 männliche Wistarratten mit 275 - 300 g Körpergewicht (Mittelwert $287 \pm 5,6$ g) wurde die Nahrung entzogen. Gabe von aqua ad lib. Bei 24 Tieren betrug der Hungerzeitraum bis zur Teilhepatektomie 5 Tage. Der Nahrungsentzug wurde bis zum Tötungstermin fortgesetzt. 3 Tiere wurden einer Laparatomie anstelle der Teilhepatektomie unterzogen. 5 Tiere hunger-ten 3 1/2 Tage bis zur Teilhepatektomie und insgesamt 5 Tage bis zum Todeszeitpunkt.

Ratten der verwendeten Gewichtsklasse entsprechen, wie die Tiere des Kontrollversuches, altersmäßig den Tieren, die in den Arbeiten von BRÄNDLE (1966) und RABES und BRÄNDLE (1969) einer Hypophysektomie unterzogen wurden. In Gruppen von 3, 8, 5, 7 und 5 wurden die Tiere 18, 24, 30 und 36 Stunden nach der Operation durch Nackenschlag getötet und die Lebern ent-nommen.

Die Herstellung und Auswertung der Autoradiogramme erfolgte nach dem im Kontrollversuch beschriebenen Schema.

3. Ergebnisse

3.1. Gewichtsverlauf bei Nahrungsentzug

Das Durchschnittsgewicht der Ratten von 287 ± 5.66 g zum Zeitpunkt des Hungerbeginns vermindert sich bis zur Teilhepatektomie auf 220 ± 6.3 g. Dies entspricht einer Abnahme des Körpergewichts um 20 %. Abbildung 2 zeigt die Abnahme des Körpergewichts von 6 zufällig herausgegriffenen Tieren.

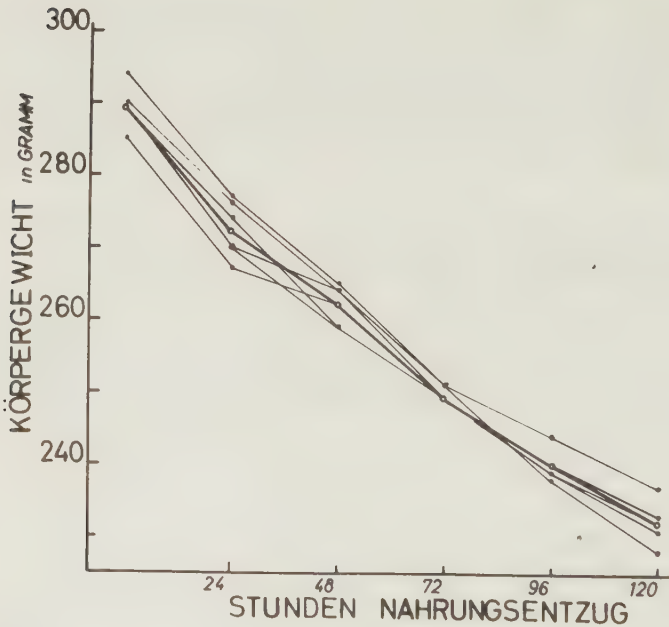


Abbildung 2: Körpergewichtsabfall in 5 Tagen bei 6 zufällig ausgewählten Wistarratten unter vollständigem Nahrungsentzug bei aqua ad libitum

Es wird deutlich, daß die Kurve der Gewichtsabfälle nahezu linear verläuft. Aus der Betrachtung der Mittelwerte ergibt sich, daß der Körpergewichtsabfall täglich etwa 10 g beträgt. ENWONWU und Mitarbeiter (1971) fanden bei ihren Versuchen ebenfalls einen linearen Verlauf des Körpergewichtabfalles bei Tieren ähnlichen Alters. Sie berichten über einen täglichen Verlust von 4 - 6 % des Körpergewichtes gegenüber dem Vortag, ein Befund, der sich mit den hier dargestellten Ergebnissen deckt (Tabelle 2). HARRISON (1953) fand bei ihren Versuchen ebenfalls einen linearen Abfall, bei allerdings höheren absoluten Gewichtsverlusten (ca. 20 g täglich). Dieser Unterschied könnte durch das verschiedene Alter der Gruppen bedingt sein, denn auch ONISHI (1970a, 1970b) fand einen Gewichtsverlust von 35 - 40 % innerhalb einer Woche. Beide Untersucher benutzten jüngere Tiere als in den hier beschriebenen Versuchen. Daher ist der Schluß naheliegend, daß jüngere Tiere auf Nahrungsentzug mit einem größeren Gewichtsverlust reagieren als ältere. Der Gewichtsverlust der Tiere, die 3 1/2 Tage bis zur Teilhepatektomie hungerten, zeigen dennoch bis zum 5. Hungertag einen übereinstimmenden täglichen und Gesamt-Körpergewichtsverlust mit den 5 Tage bis zur Operation hungernden Tieren. Die Teilhepatektomie wird nicht mit einem zusätzlichen Gewichtsabfall beantwortet, sondern der tägliche Gewichtsverlust entspricht weiterhin dem linearen Abfall (Tabelle 2).

Ausgangs- nach gewicht		1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	
A	287 g	277 g	261 g	250 g	238 g	229 g	(1)
		- 3.35 %	- 9.03 %	-12.8 %	-17.1 %	-20.0 %	(2)
			- 5.87 %	- 4.1 %	- 4.9 %	- 3.5 %	(3)
B	285 g	270 g	263 g	248 g	238 g	231 g	(1)
		- 5.3 %	- 7.7 %	-12.0 %	-16.6 %	-19.9 %	(2)
			- 2.6 %	- 5.7 %	- 4.1 %	- 2.9 %	(3)
C		- 5 %	-11 %		-22 %		(2)

Tabelle 2:

Körpergewichtsabnahme von Wistarratten bei völligem Nahrungs-
entzug und Gabe von aqua ad lib. während einer 5-tägigen Hun-
gerperiode.

Gruppe A: 5 Tage Hunger bis zur Teilhepatektomie.

Gruppe B: 3 1/2 Tage Hunger bis zur Teilhepatektomie und ins-
gesamt 5 Tage Hunger bis zum Todeszeitpunkt.

Gruppe C: Vergleichswerte von 230 g schweren Albinoratten
nach ENWONWU und Mitarbeiter (1971).

(1) = Mittelwerte von B n = 5 und A n = 6 Tieren

(2) = Gewichtsabnahme gegen Ausgangsgewicht in Prozent

(3) = Gewichtsabnahme gegen Vortag in Prozent

3.2. DNS-Synthese nach Teilhepatektomie

Der Verlauf der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie ist in Abbildung 3 anhand der TdR^3H Markierungsindices (M.I.) der Hepatozyten dargestellt. Angegeben sind die Mittelwerte der Prozent markierter Zellen einer Untersuchungsgruppe zu einem Zeitpunkt, die Anzahl der Tiere und der mittlere Fehler des Mittelwertes. Eine Übersicht über die Markierungsindices der Einzeltiere gibt Tabelle 3. Es wird deutlich, daß bei Tieren, die bis zur Operation 5 Tage gehungert haben, die DNS-Synthese zwischen 18 und 24 Stunden nach Teilhepatektomie beginnt. Sie ist zu diesen Zeitpunkten noch signifikant, bzw. hochsignifikant niedriger als bei den Kontrolltieren. Bei 18 Stunden ergeben sich nach dem t-Test Signifikanzen von $p < 0.025$, bei 24 Stunden von $p < 0.0025$. Trotzdem muß der Ansicht von SIMEK und Mitarbeiter (1970) zugestimmt werden, die keinen deutlichen Effekt auf den Zeitpunkt des Beginns der Leberregeneration nach Teilhepatektomie bei Tieren nachweisen konnten, die zuvor einige Tage gehungert hatten.

Das Maximum der DNS-Synthese findet sich nach 30 Stunden. Gegenüber den Kontrolltieren als auch gegenüber den in der Literatur angegebenen Zeiten ist die maximale Synthese um 6 Stunden verzögert (Abbildung 3, Bucher 1963, Bucher et al. 1964, Stöcker 1966, Rabes 1967, Rabes und Brändle 1969, Rizzo et al. 1971). Der Anstieg der Zahl DNS-synthetisierender Hepatozyten zu maximalen Werten geschieht langsam, die Kurve der Markierungsindices verläuft nahezu linear. Dieser Befund steht wiederum im Gegensatz zu den Angaben von GRISHAM (1962), RABES (1967), FABRIKANT (1968) und anderen Autoren, die nach dem Beginn der DNS-Synthese sehr schnell maximale Werte fanden. Auf-

fällig ist weiterhin, daß auch die Zahl der Zellen, die sich zum Zeitpunkt der maximalen Synthese in der S-Phase befinden, weit niedriger ist, als bei Kontrolltieren. Sie liegt mit 12 % nahezu um die Hälfte niedriger. Eine Hemmung der DNS-Synthese zum Zeitpunkt der maximalen Synthese wird auch bei jungen Ratten berichtet, bei denen nach Nahrungsentzug die DNS-Synthese um 20 - 30 % eingeschränkt ist (Bucher 1963).

HUNGERVERSUCH

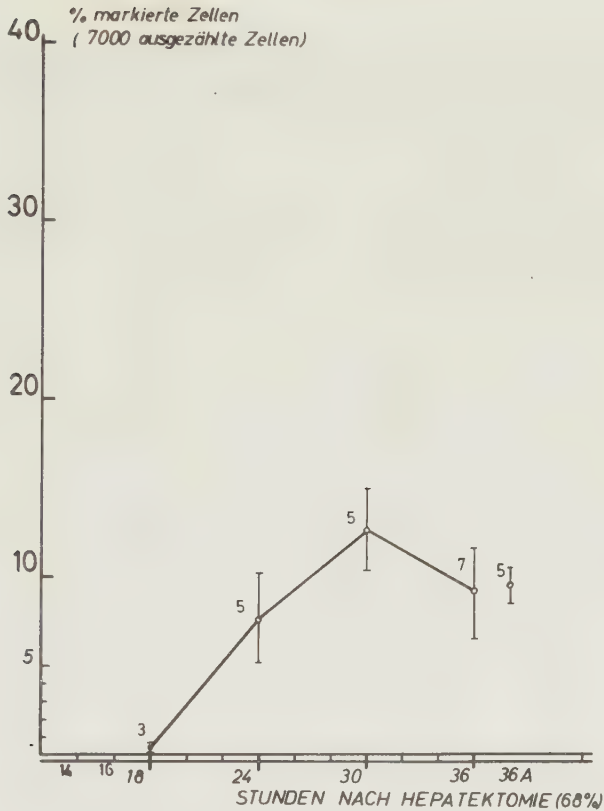


Abbildung 3: DNS-Synthese in der regenerierenden Leber hungriger Ratten in Abhängigkeit von der Zeit nach 2/3 Teilhepatektomie. Prozent der Thymidin-6-³H markierten Zellen (7000 ausgezählte Hepatozyten). Mittelwert einer Gruppe (0), Anzahl der Tiere an den Kurvenpunkten. Vertikale Linien: Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Gruppe 36 A: Tiere mit 3 1/2 Tagen Nahrungsentzug bis zum Teilhepatektomie.

Tabelle 3: TdR³H-Markierungsindices nach Teilhepatektomie bei Hungertieren mit Standardabweichung und mittlerem Fehler vom Mittelwert.

n = Anzahl der Tiere

$\bar{x}$ = Mittelwert des Markierungsindex der Tiere einer Gruppe

sx = Standardabweichung

$\bar{sx}$ = Mittlerer Fehler des Mittelwertes

Zeit n. TH	18	24	30	36	36 A
n	3	6	5	7	5
% mark. Hepa- tocyten	0.14 %	8.18 %	7.72 %	7.77 %	11.47 %
	0.75	0.91	9.06	2.70	10.61
	0.13	3.51	20.95	6.12	8.21
		17.75	11.95	1.81	11.14
		11.38	13.44	19.44	5.92
		3.92		16.27	
				9.78	
$\bar{x}$	0.34 %	7.60 %	12.62 %	9.12 %	9.47 %
sx	± 0.34	± 6.21	± 5.18	± 6.63	± 2.35
$\bar{sx}$	± 0.20	± 2.53	± 2.31	± 2.50	± 1.05
Signifi- kanz ge- gen Kon- trollgrup- pe	p < 0.025	p < 0.0025	p < 0.3	p < 0.2	p < 0.3

Gruppe 36 A: Tiere mit 3 1/2 Tagen Nahrungsentzug
bis zur Hepatektomie

Die Betrachtung der Einzelwerte zeigt, daß innerhalb einer Gruppe starke Streuungen auftreten, daß einzelne Tiere eine starke DNS-Syntheseaktivität zeigen, bei anderen Tieren diese Aktivität stark erniedrigt ist. Diese Schwankungen lassen sich nicht mit unterschiedlich starken Schwankungen in der Gewichtsabnahme erklären. Es erhebt sich somit die Frage, ob auch unter diesen extremen Hungerbedingungen die Teilhepatektomie zu einer starken Regeneration stimuliert. Dies scheint sicher zu sein, danach aber wird offenbar durch den Hunger eine Verlangsamung der einzelnen Syntheseschritte hervorgerufen. Die starke Streuung, der langsame Anstieg zu maximaler Synthese bei zeitgleichem Beginn wie bei Kontrolltieren können als Hinweis dafür gelten.

Völlig gleiche Verhältnisse konnten WIEBECKE und Mitarbeiter (1968) für die Darmepithelien der Maus im Hungerzustand nachweisen. Sie fanden sowohl eine Verlängerung der einzelnen Syntheseschritte - S-Phasen Verlängerung von 6.5 auf 11 Stunden - Verlängerung der Generationszeit, Wachstums- und Differenzierungszeit auf das 3 - 5-fache, als auch eine deutliche Verminderung der Anzahl DNS-synthetisierender Zellen nach 3 Tagen Hunger.

Da das Epithel der Darmschleimhaut als Wechselgewebe mit einer starken Regeneration mit Hepatozyten der regenerierenden Leber verglichen werden kann, scheint hier eine einheitliche Reaktion der proliferierenden Gewebe auf einen Nahrungsentzug vorzuliegen.

Unter diesen extremen Hungerbedingungen trifft zu, daß ebenso wie die RNS-Synthese (Wilson et al. 1967) auch die DNS-Synthese (Wiebecke et al. 1968) erniedrigt, aber nicht verhindert ist.

Nach OEHLERT und Mitarbeitern (1962) findet die DNS-Synthese innerhalb eines Zeitraumes von 5 - 7 Stunden vor der folgenden Mitose oder Endomitose statt (s.a. Bucher 1967, Fabrikant 1968). STÖCKER (1966) und RABES und Mitarbeiter (1972) konnten die Zellzykluszeiten genauer bestimmen und fanden bei Hepatozyten der regenerierenden Rattenleber eine Gesamtzyklusdauer von etwa 33 Stunden, bei einer G_1 Phasendauer von etwa 20 Stunden, S-Phasendauer von etwa 7 - 8 Stunden, G_2 -Phasendauer von 2 bzw. 3 Stunden und Mitosedauer M von etwa 2 Stunden. Es ist daher anzunehmen, daß entsprechend der zeitlichen Verzögerung des DNS-Synthesemaximums bei Hungerratten auch der Zeitpunkt der maximalen Mitoseaktivität entsprechend verzögert ist. Die Befunde stimmen nicht mit WEINBREN (1959) überein, daß auch bei Hungerratten das Mitosemaximum nach Teilhepatektomie bei 28 - 29 Stunden nach der Operation liegt. Bei 300 g schweren Ratten wird unter Nahrungsentzug zu diesem Zeitpunkt erst die maximale DNS-Synthese erreicht.

Eine Laparatomie bei Tieren, die ebenfalls 5 Tage bis zum Eingriff hungerten, führte nicht zu einem Anstieg der DNS-Synthese in den Hepatozyten. Die Anzahl der 24 Stunden nach dem Eingriff mit TdR^3H markierten Hepatozyten liegt bei 0.01 - 0.07 %. Gegenüber dem TdR^3H -Index der ruhenden Leber von 0.01 - 0.09 % besteht kein Unterschied. Einer Laparatomie kann bei längerem Nahrungsentzug sicherlich kein stimulierender Effekt auf die DNS-Synthese der ruhenden Leber zugeschrieben werden (s.a. Grisham et al. 1966).

4. Diskussion:

Auswirkungen des Hungers auf die Leberzelle

Die Auswirkung von Nahrungsentzug auf die Leberzelle ist verschiedentlich untersucht worden. Die Schwierigkeit, differierende Ergebnisse zu vergleichen, besteht darin, daß in den Untersuchungen Tiere (meist Ratten) unterschiedlichen Alters und Geschlechts verschieden langen Hungerperioden ausgesetzt wurden. So ist es notwendig, folgende drei Punkte zu besprechen, um die Wirkung des Hungers auf die DNS-Synthese deuten zu können:

1. Wirkung von Nahrungsentzug und Mangel diät auf die Leberzelle
2. Wirkung des Hungers auf zelluläre Fraktionen, Proteine und Nucleinsäuren
3. Hunger und regenerative Prozesse.

Zu 1.:

Nahrungsentzug führt in den ersten Tagen zu einem stärkeren Abfall des Lebergesamtgewichtes als in den nachfolgenden Tagen. Dieser Abfall geschieht bei jüngeren Tieren schneller als bei älteren. ENWONWU und Mitarbeiter (1971) fanden nach vier Tagen Hunger bei 220 - 250 g schweren Sprague-Dawley-Ratten einen Lebergewichtsverlust von 26 %, DOLJANSKI und Mitarbeiter (1966) bei 150 - 200 g schweren Tieren einen Verlust von 41 %.

An der Einzelzelle zeigt sich nach 6 Tagen ein Gewichtsverlust von 37 % (Harrison (1953) und ein deutlicher Abfall des Zellvolumens (Doljanski et al. 1966). Im gleichen Zeitraum verschiebt sich die Kern-Plasma-Relation um 13 % zugunsten des Kernes. HARRISON (1953) folgert daraus, daß der Gewichtsverlust einem Verlust zytoplasmatischer Substanzen entspricht.

Neben dem vollständigen Nahrungsentzug führt auch proteinfreie Ernährung nach sieben Tagen zu einem Verlust von 27 % des Zytoplasmas (Kosterlitz 1944). Bei langfristiger, 4-wöchiger Gabe von caseinfreier Nahrung wird die Proteinsynthese in der Leber gehemmt, nicht aber vollständig blockiert (Gurd et al. 1948). Sie sinkt auf ein niederes Niveau und erreicht dort ein neues Gleichgewicht. Lichtmikroskopisch findet man bei Hungertieren und proteinfrenährten Tieren einen Verlust der scholligen Basophilie des Zytoplasmas und einen Übergang in eine diffuse Basophilie (Lagerstedt 1949, Di Stefano und Diermeier 1959) mit einer geringen läppchenperipheren feintropfigen Leberzellverfettung (Kramsch et al. 1963). Elektronenmikroskopisch kann man einen Verlust der Interzellularbrücke, der Zelladhärenz und Verlust intrazellulären Materials, wie Ribosomen und rauhes EPR, erkennen (Tomi et al. 1961, Becker und Lane 1966). Biochemisch und histochemisch imponiert ein schneller Verlust des Glykogens, das zur Aufrechterhaltung des Blutglukosespiegels utilized wird (Becker und Lane 1966, Grundmann und Seidel 1969), weiterhin ein Proteinverlust, der das vierfache von dem beträgt, was im gleichen Zeitraum in anderen Organen abgebaut wird (Addis et al. 1936), Phospholipoidveränderungen (Thomson et al. 1953, Enwonwu et al. 1971), Abfall des RNS-Gehaltes, Verlust von Wasser und parallel dazu von K^+ und Verringerung des Aminosäure-Pools bei Speicherung von Neutralfetten (Thomson et al. 1953, Harrison 1953, Di Stefano und Diermeier 1959, Addis et al. 1936, Onishi 1970b, Enwonwu et al. 1971). Die Hauptursache des schnellen Abfalls des Lebergewichts zu Beginn der Hungerperiode scheint der Glykogenverlust zu sein, da sich dieser Abfall bei Hungertieren durch Gabe von Kortikosteroiden - die eine Glykogensynthese stimulieren - verhindern läßt

(Perez-Tamayo et al. 1953). Nach einer Latenzzeit von etwa 4 Tagen nach Hungerbeginn speichern die Hepatozyten männlicher Ratten wieder Glykogen, während eine solche Glykogenablagerung bei weiblichen Ratten nicht zu beobachten ist, hingegen schon nach 4 Tagen eine Speicherung von Neutralfetten. Aus diesen Beobachtungen schließt HARRISON (1953), daß weibliche Ratten gegen Hunger empfindlicher sind als männliche Tiere.

Ein Nahrungsentzug von insgesamt sieben Tagen ist nach KRAMSCH und Mitarbeitern (1963) das Maximum, nach dem noch eine Erholung der Tiere auftritt. Zwar konnte HARRISON (1953) nach 6 Tagen Hunger noch keine Lebernekrosen finden, den massiven Abfall der DNS nach 7 Tagen fassen ENWONWU und Mitarbeiter (1971) jedoch als Zeichen für einen erhöhten Zellabbau auf.

Zu 2.:

Die auffälligste Veränderung an zellulären Strukturen, sowohl bei völligem Nahrungsentzug als auch bei proteinfreier Ernährung, ist der Abbau des rauen endoplasmatischen Retikulums. Dieser Abbau ist gleichbedeutend mit einem Verlust der Bindungsstellen der Ribosomen an die Membran mit Zunahme freier Ribosomen (Tomi et al. 1961), Onishi 1970a, Enwonwu et al. 1971). Die freien Ribosomen sind reich an endogener Ribonuclease und sehr empfindlich gegen enzymatische Spaltung (Blobel und Potter 1967). Sie werden daher leicht abgebaut. So findet man dann einen verringerten Gesamtpolysomengehalt der Zelle und eine Verschiebung des Polysomenprofils mit einem Netto-Verlust von Nucleoprotein-Granula, Abnahme des Ribonucleotidspiegels und durch Verlust des Syntheseapparates einen Abfall der Gesamtproteinbiosynthese (Wilson et al. 1967, Onishi 1970a, Enwonwu et al. 1971). Nach Nahrungsentzug von 48 Stunden

sinkt der Proteingehalt der Einzelzelle um 25 % unter Vergleichswerte (Thomson 1953, Enwonwu et al. 1971). Bezogen auf den DNS-Gehalt der Zelle ist die Proteinsynthese nach 5 Tagen um 70 % abgefallen (Wilson und Hoagland 1967). Bei einem Körpergewichtsverlust von 35 - 40 % nach 9 Tagen Hunger ist der Proteingehalt der Hepatozyten um 64 % erniedrigt (Onishi 1970b). WILSON und Mitarbeiter (1967) konnten feststellen, daß die Proteinsynthese der Leberzelle nicht gleichmäßig absinkt. Die Albuminsynthese steigt im Vergleich zum Synthese anderer Proteine an, d.h. die Albuminsynthese ist unempfindlicher gegen Bedingungen, die die Synthese anderer Proteine herabsetzen. Sie schließen daraus, daß auch die Empfindlichkeit der RNS gegen diese Bedingungen nicht gleich ist und die Albuminsynthese wahrscheinlich von der stabilsten mRNS gelenkt wird. Die Stabilität der mRNS ist andererseits korreliert mit dem Abbau der Polysomen (Wilson und Hoagland 1967), so daß die beobachtete Veränderung des Polysomenprofils nach Nahrungsentzug (Onishi 1970a) als das morphologische Äquivalent der Änderung in der Protein-Zusammensetzung zu betrachten ist.

Ähnlich schnell wie Veränderungen im Gesamtproteingehalt der Zelle treten Änderungen im Gehalt und der Aktivität der RNS-Polymerasen und Ribo-Nucleinsäuren auf. Nach 48 Stunden Hunger ist der RNS-Gehalt um 39 % (Enwonwu et al. 1971), nach 5 Tagen um 50 % (Wilson und Hoagland 1967) gesunken.

Der Abfall der DNS-abhängigen RNS-Polymerase läuft parallel dem Gewichtsverlust und dem Abfall der verschiedenen RNS-species. Die Menge bzw. die Aktivität der RNS-Polymerase ist der limitierende Faktor in der RNS-Synthese, daher könnte der Abfall der Polymerase im Gefolge einer insgesamt verminderten Proteinsynthese der Hauptgrund für den Abfall des RNS-Gehaltes der Leberzelle (Onishi 1970a, 1970b) sein.

Letztlich wäre damit die Verfügbarkeit von Aminosäuren für die Proteinbiosynthese, und damit auch der Enzymsynthese, für den Gehalt der Leber an RNS verantwortlich (Enwonwu et al 1971). Diese Verfügbarkeit ist im Hungerzustand nicht gegeben (Di Stefano und Diermeier 1959). Durch 're-feeding' Versuche (Nahrungsgabe nach 7 Tagen Hunger) versuchte ONISHI (1970a, b) diese Zusammenhänge zu klären und stellte fest, daß nach Nahrungszufuhr die Aktivität der RNS-Polymerase sofort ansteigt und der RNS-Phosphatgehalt pro Einheit DNS-Phosphat innerhalb von 24 Stunden normale Werte erreicht. TSUKADA und LIEBERMAN (1965) nehmen an, daß eine gesteigerte RNS-Synthese durch eine Neubildung der RNS-Polymerase gesteuert oder limitiert wird, da sie durch Gabe von Puromycin, einem Proteinsynthesehemmer, verhindert werden kann. Sie postulieren das Vorhandensein einer spezifischen mRNS für dieses Enzym. Diese Vorstellungen setzen voraus, daß die Synthesefunktion der Zelle nur aufrechterhalten werden kann, wenn durch ausreichende Zufuhr von Nahrungsprotein die Verfügbarkeit von Aminosäuren zur Proteinsynthese gewährleistet wird.

Im Gegensatz zur RNS ist der DNS-Gehalt der Leberzellen in allen Ploidiestufen von Nahrungseinflüssen weitgehend unabhängig (Campbell und Kosterlitz 1952, Harrison 1953, Di Stefano und Diermeier 1959). Bei jungen Ratten soll Hunger sogar zum Anstieg des DNS-Gehaltes pro Kern führen (Campbell und Kosterlitz 1952), verhindert aber nach DI STEFANO und DIERMEIER (1959) aufgrund eingeschränkter DNS-Synthese die Entwicklung zu höheren Ploidiestufen. Ebenso wird auch nach Hypophysektomie, die ja auch zu einem Ernährungsmangelzustand führt, die Entwicklung zu höheren Ploidiestufen verhindert, wie in Teil 4 ausgeführt wird. Erst nach 4 Tagen Hunger fanden ENWONWU und Mitarbeiter (1971) einen Abfall des DNS-Gehaltes in der Gesamtleber.

Generell ist also der Gehalt zytoplasmatischer Substanzen einer Leberzelle durch Umweltveränderungen, Nahrungs- und Proteinentzug wesentlich leichter zu beeinflussen als der DNS-Gehalt des Kernes. Die DNS-Synthese und die mitotische Aktivität werden dann erst sekundär beeinflusst.

Zu 3.:

In den Hepatozyten der ruhenden Leber laufen bei Nahrungs- entzug Veränderungen ab, die auch in der regenerierenden Leber normal ernährter Ratten zu finden sind (s.o.) Dort finden sich in der präproliferativen Phase ebenso wie in der Hungerzelle:

Strukturabbau: Am endoplasmatischen Retikulum Lösung der Ribosomen von der Membran (morphologisches Äquivalent des Verlustes der scholligen Basophilie), Abbau von Ribosomen, Erweiterung der intralamellären Räume mit Vakuolen- und Bläschenbildung, Verlust von Mitochondrien u.a.

Glykogenverlust durch Glykogenabbau, Vermehrung der Speicherung von Neutralfetten,

Membranveränderungen: Z.B. Verlust der subsinusoidalen Microvilli, Verlust der Adhärenz und damit Erhöhung der elektrophoretischen Beweglichkeit u.a.

(Lagerstedt 1949, Harrison 1953, Bucher 1963, Becker und Lane 1966, Doljanski et al. 1966, Lane und Becker 1966; weitere Literatur bei Grundmann und Seidel 1969). Nach Teilhepatektomie finden sich bei Hungerratten wie bei Normalratten die Einlagerung von Neutralfetten (Camargo et al. 1966), Anstieg der DNS-Synthese und der Zellzahl (Brues et al. 1936, Post et al. 1957, Perez-Tamayo et al. 1953, Doljanski et al. 1966); bei gleichzeitiger Einschränkung der

Zellmasse (Brues et al. 1936); bei kurzen Hungerperioden auch eine unveränderte initiale Mitosewelle (Becker und Lane 1966). Demgegenüber bleibt die vermehrte Phagozytose und die Bildung der Autophagolysosomen nach Teilhepatektomie bei Hungertieren aus. So erlaubt der Nahrungsentzug in gewisser Weise eine Unterscheidung der metabolischen und regenerativen Phänomene der Zelle. Veränderungen wie Lipoideinlagerungen, die Autophagozytose, der Abbau zytoplasmatischer Strukturen, die Zunahme der elektrophoretischen Beweglichkeit usw. scheinen nur eine kontrollierte Vereinfachung und Entdifferenzierung der Zelle zu sein. Diese Vorgänge, die zwar auch der Vorbereitung der Mitose dienen (Oehlert et al. 1962) können, vielleicht nur durch die Materialbeschaffung aus zellulären Abbauprodukten (Becker und Lane 1965), sind aber keine Initiatoren oder obligate Phasen in der frühen Präparation für die Mitose (Becker und Lane 1966). Umgekehrt kann man auch sagen, daß diese Veränderungen, wenn sie z.B. durch Hunger hervorgerufen sind, den Regenerationsprozeß nicht hemmen. FISHER und FISHER (1963) glauben, daß sie überhaupt weniger der Regeneration selbst, als vielmehr einer operationsbedingten Hungerphase zuzuordnen sind. Ebenso ist es denkbar, daß sowohl bei Hungertieren als auch bei partiell hepatektomierten Tieren erhöhte funktionelle Belastung zu einer Überanspruchung und begrenzten Schädigung der Leberzellen führt.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen deutlich, daß auch exzessiver Nahrungsentzug nicht zu einem Verlust der regenerativen Potenz der Hepatozyten führt. Die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen nach Teilhepatektomie nimmt zwar gegenüber gefütterten Kontrolltieren ebenso wie die Mitosehäufigkeit (Peters 1962) ab, die DNS-Synthese selbst ist aber nicht verhindert (vergl. auch Wiebecke et al. 1968).

Für die Erklärung der Veränderung im DNS-Syntheseverlauf ist zu bedenken, daß die ungenügende Ernährung zu einem Abfall der energieliefernden Substrate führt. Die ungenügende Aminosäurezufuhr bedingt eine herabgesetzte Proteinsynthese und erschwert eine zusätzliche Enzymsynthese bei plötzlichem Mehrbedarf. Die RNS-Synthese läuft eingeschränkt ab, so daß die für die DNS-Reduplikation notwendigen Vorläuferschritte behindert sind. Der langsame Anstieg der DNS-Synthese kann als Hinweis gelten, daß die Neosynthese bestimmter Enzyme nicht mit der gleichen Geschwindigkeit abläuft wie bei optimal ernährten Tieren. Der verzögerte Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese bei gleichzeitiger großer Streuung der Einzelwerte spricht dafür, daß trotz gleicher Körpergewichtsverluste die Einzeltiere durch die Hungerperiode verschieden belastet werden und die Teilhepatektomie nicht für alle Leberparenchymzellen ein gleichmäßig starker Proliferationsreiz ist. Bei der Betrachtung der Autoradiogramme dieses Versuches zeigt sich, im Gegensatz zu dem im Teil V besprochenen Versuch, keine deutliche intralobuläre Topik der DNS-synthetisierenden Hepatozyten. Vielmehr sind die mit PdR^3H -markierten Zellen diffus über den gesamten Leberlobulus verteilt, entsprechend der Verteilung in einer nicht proliferierenden Leber.

Bei der Bewertung der Anzahl der DNS-synthetisierenden Hepatozyten darf nicht übersehen werden, daß die maximale DNS-Synthese erst 6 Tage nach Beginn des Nahrungsentzuges abläuft, zu einem Zeitpunkt also, bei dem bereits mit größeren Netto-Verlusten von DNS zu rechnen ist (siehe Enwonwu et al. 1971). Diese Verluste können sowohl beim Einzeltier zu einem niedrigeren Markierungsindex führen, wie auch beim Gesamtkollektiv eine weite Streuung der einzelnen Markierungsindices vom Mittelwert bewirken.

Exzessiver Nahrungsentzug führt somit wahrscheinlich erst sekundär zu einer Modifizierung der regenerativen Antwort nach Teilhepatektomie. Die Modifizierung dieser regenerativen Antwort durch eine Hypophysektomie, die ja ebenfalls zu einer verringerten Nahrungsaufnahme und einem Körpergewichtsverlust der Tiere führt, stimmt mit der Modifizierung durch einfachen Nahrungsentzug nicht überein. Die verringerte Nahrungsaufnahme der hypophysektomierten Tiere bewirkt nach diesen Ergebnissen an Hungertieren nicht die spezifischen Veränderungen im Ablauf der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie (Rabes und Brändle 1969), wie sie an der Leber der Hungertiere nach Teilresektion beobachtet wurden.

5. Zusammenfassung

Ein 5-tägiger Nahrungsentzug führt zu Veränderungen der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber partiell hepatektomierter Ratten.

Die DNS-Synthese beginnt etwa 18 Stunden nach Teilhepatektomie. Die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen steigt nahezu linear bis zu einem Maximalwert 30 Stunden p.op. an. Gegenüber gefütterten Tieren ist damit der Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese geringfügig verschoben. Die Anzahl der Hepatozyten in der S-Phase zum Zeitpunkt maximaler Synthese ist deutlich geringer als die Zahl der Zellen zum Zeitpunkt maximaler DNS-Synthese bei gefütterten Kontrolltieren. Der Hungerzustand führt insgesamt zu einer verlangsamten Zellerneuerung der Leberepithelien.

In einem Zusatzversuch wurde gezeigt, daß die Anzahl DNS-synthetisierender Zellen 36 Stunden nach Teilhepatektomie unabhängig davon ist, ob die Versuchstiere bis zur Operation 3 1/2 oder 5 Tage gehungert haben.

Eine Laparatomie nach 5 Tagen Hunger führt zu keiner Stimulation der DNS-Synthese in der ruhenden Leber.

Diese Veränderungen des DNS-Syntheseablaufs bei Hungertieren können bedingt sein durch ungenügende Enzymausstattung der Zellen aufgrund der Proteinverluste und durch ungenügende Proteinneosynthese. Die eingeschränkte Enzymausstattung verlangsamt die zur DNS-Synthese notwendigen Vorläuferschritte. Die Einschränkung der Nahrungszufuhr bedingt unter Umständen eine ungenügende Energiebereitstellung für den Zellstoffwechsel. Zu berücksichtigen ist weiterhin der beginnende DNS-Abbau in geschädigten Zellen und die mögliche Verlängerung der S-Phase.

Die Regeneration der Leber unter Nahrungsentzug verläuft insgesamt gedämpfter als bei Normaltieren, die regenerative Potenz ist jedoch nicht beeinträchtigt.

B. VERSUCHE - Teil III

DIE BEEINFLUSSUNG DER DNS-SYNTHESE IN DER REGENERIERENDEN LEBER DURCH ORCHIDEKTOMIE

1, Einleitung

Mit einem zweiten Versuch soll der Einfluß des Regelkreises gonadotrope Hormone - gonadale Hormone auf die Leberregeneration nach partieller Hepatektomie geprüft werden.

Bei männlichen Vertebraten ist das Steroidhormon Testosteron, das in den Leydigischen Zwischenzellen des Hodens gebildet wird, das wirksamste und wichtigste androgene Hormon. Seine Bildung wird durch das Hypophysenhormon ICSH (HCG) gesteuert. Die Androgene der Nebennierenrinde (NNR) wie Androstendion und Dehydroepiandrosteron werden nur in sehr geringer Menge im Hoden gebildet und sind etwa 80 - 90 % weniger wirksam. Ihre Bildung wird durch ACTH gesteuert (Tamm 1970, Ganong 1971; weitere Literatur in Geigy, wiss. Tabellen 1968).

Es bestehen prinzipiell zwei Möglichkeiten, den Einfluß des Testorons auf die Leberregeneration zu prüfen:

a) Testosteron-Gabe bei gesunden männlichen Tieren.

Diese Methode hat den Nachteil unphysiologisch hoher Testosteronspiegel im Serum und damit unkontrollierbarer Wirkung. Wir entschieden uns daher für die

b) Orchidektomie, die diesen Nachteil nicht hat und eher dem Negativzustand nach Hypophysektomie entspricht.

Zur Klärung der Folgen einer Hypophysektomie auf die Leberregeneration bzw. die DNS-Synthese der ersten Proliferationswelle, soll untersucht werden, ob die Unterbrechung des Regelkreises Hypophyse - Testis Ursache der verzögerten DNS-Synthese in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Ratten ist.

2. Material und Methode

39 geschlechtsreife männliche Inzuchtratten des Wistarstammes mit einem Gewicht von 229 - 252 g (mittleren Gewicht 243 ± 8.9 g) entsprechend einem Alter von 3 1/2 bis 4 Monaten wurden einer Orchidektomie unterzogen. Die Operation wurde in Äthernarkose durchgeführt. Nach einem Haut- und einem Bauchdeckenschnitt von 2 - 3 cm Länge im kaudalen Teil der linea alba wurden die Hoden einschließlich Anhangsgebilde und umgebendem Fettgewebe mobilisiert und aus der Bauchhöhle ausgelagert, Samenstrang und Gefäße abgebunden, Hoden mit beiden Nebenhoden scharf abgetrennt und die Stümpfe mit Fettgewebe zurückverlagert. Die Bauchhöhle wurde durch fortlaufende Bauchdecken- und Bauchhautnähte verschlossen. Alle Tiere überstanden Narkose und Eingriff in gutem Zustand.

Die Tiere erhielten Altromin^R-Standarddiät, Wasser ad lib. und wurden bei konstanter Raumtemperatur mit natürlichem Hell-Dunkel-Rhythmus zu je 4 in Macrolon-Käfigen Typ III gehalten.

48 Stunden nach der Kastration wurden die Tiere einer partiellen Hepatektomie nach der Methode von HIGGINS und ANDERSON (1931) unterzogen, die im Kontrollversuch ausführlich beschrieben wurde. Drei Tiere wurden nicht Hepatektomiert, sondern lediglich laparotomiert. Als Narkotikum wurde Äther pro narcosi verwendet.

11, 17, 23, 29, 36 und 41 Stunden nach der Operation erhielten die Tiere eine Injektion von $0.8/\mu\text{Ci}$ TdR³H/g KG und wurden 60 Minuten später durch Nackenschlag getötet.

Herstellung und Auswertung der Autoradiogramme sowie die dazu verwendeten Substanzen sind im Kontrollversuch beschrieben.

3. Ergebnisse

Die Orchidektomie wurde 2 Tage vor der Teilhepatektomie durchgeführt. Dieser Zeitraum schien ausreichend, um einen deutlichen Abfall von Testosteron in Blut und Geweben zu gewährleisten. Injiziertes Testosteron (z.B. als Testosteronpropionat) hat eine Halbwertszeit von 4 Minuten. Endogenes Testosteron ist zu 65 % an spezifisches β -Globulin gebunden, z.T. auch an Erythrozyten und zirkuliert nur zu 1 - 2 % als freies Hormon im Blut. Daher wird es wesentlich langsamer als exogen zugeführtes Hormon aus dem Blut-Plasma eliminiert (Tann 1969). Wenn auch in Substitutionsversuchen mit Testosteron ein Abstand von 3 Tagen zwischen Kastration und Versuchsbeginn gewählt wird (z.B. Anderson et al. 1971), so scheint doch der hier gewählte Zeitraum von 2 Tagen zwischen Orchidektomie und Teilhepatektomie, bzw. 3 Tage zwischen Orchidektomie und erwartetem Beginn der DNS-Synthese lang genug zu sein, um einen Einfluß des testikulären Testosterons auf die DNS-Synthese auszuschließen.

Die autoradiographisch bestimmten TdR³H-Markierungsindices zu verschiedenen Abständen nach Teilhepatektomie sind in Abbildung 4 und Tabelle 4 dargestellt.

KASTRATION S VERSUCH

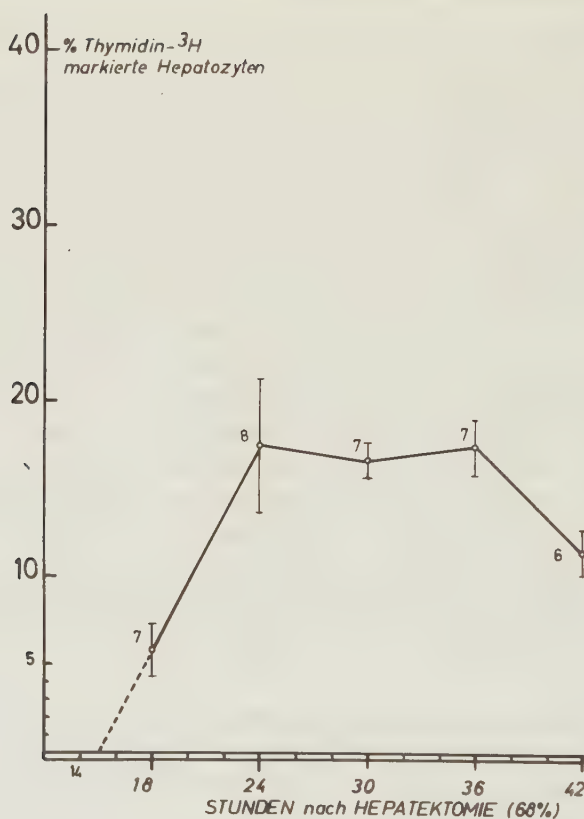


Abbildung 4:

DNS-Synthese in der regenerierenden Leber orchidektomierter Ratten in Abhängigkeit von der Zeit nach 2/3 Teilhepatektomie. Prozent der Thymidin- ^3H -markierten Zellen (7000 ausgezählte Hepatocyten pro Versuchstier. Mittelwert ($\bar{x}$) einer Gruppe, Anzahl der Tiere an den Kurvenpunkten. Vertikale Linien: Mittlere Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 4:

TdR³H-Markierungsindices nach Teilhepatektomie bei orchidektomierten Ratten mit Standardabweichung und mittlerem Fehler vom Mittelwert.

n = Anzahl der Tiere

$\bar{x}$ = Mittelwert der Markierungsindices einer Gruppe

sx = Standardabweichung

$s\bar{x}$ = Mittlerer Fehler vom Mittelwert

24 K Kontrollgruppe: Orchidektomie und Laparatomie anstatt Hepatektomie

Zeit n.TH	18 Std	24 Std	24K Std	30 Std	36 Std	42 Std
%	11.72	10.34	0.25	15.82	21.61	16.78
mark.	0.14	9.25	0.03	21.18	15.36	13.14
Hepa-	2.10	14.50	0.02	18.00	24.67	10.92
tozy-	4.44	18.01		17.15	15.80	9.18
ten	7.48	26.80		16.10	16.35	10.80
	7.30	8.37		14.30	21.01	7.62
	7.43	12.90		13.55	15.87	
		39.44				
n =	7	8	3	7	7	6
$\bar{x}$ =	5.80%	17.45%	0.10%	16.58%	17.38%	11.40%
sx	± 3.88	± 10.69	± 0.10	± 2.58	± 4.28	± 3.24
$s\bar{x}$	± 1.46	± 3.78	0.07	± 0.97	± 1.61	± 1.32

p > 0.10 > 0.15 < 0.025 < 0.05

gegen Kontrollgruppe 270 - 300 g schwere Tiere

12 Stunden nach der Teilhepatektomie findet sich im Autoradiogramm noch keine markierte Leberparenchymzelle (1 Versuchstier), 6 Stunden später hat die DNS-Synthese bereits eingesetzt. Es finden sich $5.8 \% \pm 3.88$ (Standardabw.) markierte Hepatozyten. Zu den Kontrolltieren besteht kein signifikanter Unterschied ($p > 0.1$). Der Beginn der DNS-Synthese ist also zeitlich nicht verändert und liegt im Zeitraum von 15 - 18 Stunden (Rabes 1967, Fabrikant 1968, Tuczek 1970). Die DNS-Synthese steigt dann ebenso wie bei den Kontrolltieren (Abb.1) steil an und erreicht bei 24 Stunden ein Maximum mit $17.45 \% \pm 10.69 \%$ (Standardabw.) markierter Zellen. Gegenüber den Kontrollen ist der Markierungsindex (MI) nicht signifikant verändert, jedoch besteht ein hochgradig signifikanter Unterschied der Anzahl markierter Hepatozyten bei den hepatektomierten gegenüber den lediglich laparatomierten Tieren ($p < 0.01$). Auffällig ist die große individuelle Streuung. Ein Tier zeigt 39 % markierte Zellen und damit einen weitaus höheren M.I. als das gesamte übrige Kollektiv. Die Behandlung dieses Tieres entsprach in allen Punkten der Behandlung der übrigen Tiere. Die Anzahl der Zellen, die sich 24 Stunden nach Teilhepatektomie in der S-Phase befinden, ist deutlich, wenn auch nicht signifikant niedriger und liegt auch gering unter den sonst bei Normaltieren gefundenen Werten (Rabes und Brändle 1969). In den nächsten 12 Stunden bleibt die Anzahl der Zellen, die sich in der S-Phase befinden, nahezu unverändert. 36 Stunden nach Teilhepatektomie beträgt der mittlere Markierungsindex der Tiere immer noch $17.38 \% \pm 4.28 \%$ und ist damit deutlich ($p < 0.05$) höher als der M.I. der Kontrolltiere mit $12.08 \% \pm 3.97 \%$ zum gleichen Zeitpunkt. Er ist ebenfalls höher als der von BRÄNDLE (1966) und RABES und BRÄNDLE (1969) angegebene Wert bei etwas jüngeren Tieren. Zwar nimmt die

Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen später etwas ab, ist aber nach 42 Stunden immer noch hoch (M.I. 11.4 %). Der Abfall der Anzahl DNS-synthetisierender Zellen verläuft im Gegensatz zum Anstieg der Zahl DNS-synthetisierender Zellen bis zu dem in diesem Fall erheblich verlängerten DNS-Synthesemaximum langsam, ein Befund, der auch den Regenerationsverlauf bei normalen Ratten kennzeichnet (Grisham 1962).

Die DNS-Synthese der Hepatozyten nach Teilhepatektomie und Orchidektomie kann nach diesem Ergebniss folgendermaßen charakterisiert werden: Sie beginnt regelrecht 16 - 18 Stunden p.op., steigt zu Maximalwerten 24 - 36 Stunden p.op. und ist dabei etwa 12 Stunden gleichbleibend hoch. Die Anzahl der synthetisierenden Zellen ist zum Zeitpunkt der maximalen Synthese niedriger als bei Kontrolltieren zum gleichen Zeitpunkt. Die erste DNS-Synthesewelle nach Teilhepatektomie verläuft über einen wesentlich längeren Zeitraum als bei Vergleichstieren. Sie verläuft nach einem anderen Schema als in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Ratten (Brändle 1966, Versuch Teil 4), adrenaletomierter Ratten (Versuch Teil 3), hungernder Ratten (Versuch Teil 1) und normaler Ratten (Bucher und Mitarbeiter 1964, Rabes 1967, Fabrikant 1968, Kontrollversuch vergl. Abbildung 11).

4. Diskussion

Orchidektomie und Leberregeneration

Das im Hoden gebildete Testosteron ist das aktivste androgene Hormon. Bei männlichen Tieren läßt sich seine Produktion durch Orchidektomie weitgehend ausschalten. Eine vollständige Unterbrechung der Testosteronproduktion läßt sich aber nur bei gleichzeitiger Blockierung der Nebennierenrinde (NNR) erreichen, z.B. mit Dexamethason.

Der Organismus besitzt die Fähigkeit, die weit weniger wirksamen NNR-Androgene Androstendion und Dehydroepiandrosteron in Testosteron umzuwandeln (Klosterhalfen et al. 1965, Tamm 1969, Ganong 1971). Als Folge der Orchidektomie steigt die Sekretion von ICSH und ACTH aus der Hypophyse an. Über die ACTH-Stimulation und Umwandlung der NNR-Androgene kann das akute Hormondefizit in gewisser Weise kompensiert werden. Diese Umwandlung geschieht unter anderem auch in der Leber. Eine Orchidektomie kann also nicht gleichgesetzt werden mit einem völligen Ausfall der Testosteronproduktion (Klosterhalfen et al. 1965, Tamm 1970, Ganong 1971; weitere Literatur in Geigy, wiss.Tab. 1968).

Nach Kastration sinkt das Lebergewicht langsam ab, das Verhältnis RNS/DNS verringert sich, wobei der Abfall der RNS zum Abfall des Lebergewichtes proportional ist (Campbell und Kosterlitz 1950, Widnell und Tata 1966). Androgensubstitution hebt diese Veränderungen auf. Die Wirkung des Testosteron, des Hauptandrogens, scheint daher in erster Linie die RNS, weniger die DNS zu betreffen, so daß es notwendig erscheint, kurz den Zusammenhang zwischen Hormon und Nucleinsäuren zu betrachten.

Das spezifische Zielorgan des Hormons sind die Prostata-epithelien und die Samenblasen. Hier entfaltet es seine Hauptwachstumsfunktion (Swann 1958, Bullough 1965). Daneben stimuliert es auch das Wachstum anderer Gewebe, wie z.B. der Leber junger kastrierter Ratten (Widnell und Tata 1966). Die spezifischen Geschlechtswirkungen des Hormons scheinen durch den Zellkern der Zellen im Erfolgsorgan vermittelt zu werden. Ein spezifischer Proteinrezeptor im Zytoplasma soll das Hormon an eine Empfangsstelle im Kern weiterleiten, wo es dann in eine um 50 % aktivere Form, das 5 α -Dihydrotestosteron umgewandelt wird (Williams-Ashman et al. 1964, Tamm 1969). In diesen Zellen bewirkt das Testosteron hauptsächlich eine Steigerung der Proteinbiosynthese und Bildung von Enzymen, wie der β -Glucuronidase, Aldosereduktase und anderer Proteine, die für die Androgen-abhängige sekretorische Funktion notwendig sind (Liao und Williams-Ashman 1962, Tamm 1970, Frieden und C.C. Ku 1971). Eine Steigerung des Einbaus von Aminosäuren in Protein unter Testosteron läßt sich auch in zellfreien Systemen nachweisen (Anderson et al. 1971).

Die früheste Veränderung nach Gabe von Testosteron in Prostata und Samenbläschen ist der Anstieg der Mg^{2+} - und Mn^{2+} -amoniümsulfat-aktivierten RNS-Polymerase (Widnell und Tata 1966, Frieden und C.C. Ku 1971). WIDNELL und TATA (1966) vermuten, daß Testosteron dann wie andere Wachstums-fördernde Hormone durch Induktion der RNS-Polymerase zur Bildung neuer ribosomaler Partikel führt. LIAO und WILLIAMS-ASHMAN (1962) sind dagegen der Ansicht, daß Testosteron direkt die Bildung vom mRNS beeinflusst (s.a. Ganong 1971) oder primär den Transfer der Aminosäuren durch die tRNS. Im Nierenparenchym weiblicher Ratten bewirkt nach FRIEDEN und C.C. KU (1971) die Gabe von Testosteron einen Anstieg aller RNS-Fractionen.

Einen anderen Wirkungsmechanismus des Testosterons glauben SUNSHINE und Mitarbeiter (1971) entdeckt zu haben. Sie sahen, daß Steroidhormone an der Leberzelle eine Schutzfunktion gegen Kanzerogene haben. Unter Gabe von Testosteron und Östrogenen fanden sie eine Zunahme der Ribosomen-Bindung an die Membranen, offenbar an den Stellen, an denen auch das Kanzerogen angreift. Nach den Befunden von BLOBEL und POTTER (1967, siehe auch Teil III) sind aber freie Ribosomen wesentlich empfindlicher gegen enzymatische Spaltung, so daß bei einer Zunahme des Anteils membrangebundener "geschützter" Ribosomen letztlich auch eine Zunahme der Ribosomen insgesamt und damit der Proteinsynthese denkbar wäre.

Wenn auch der molekulare Angriffspunkt der Hormone noch unklar ist (Labhart 1971), so spricht doch vieles dafür, daß über eine Zunahme der RNS, durch vermehrte Aktivität der RNS-Polymerasen oder durch Erhöhung der katalytischen und synthetischen Aktivität der Ribosomen der Aminosäureumsatz und -einbau in Proteine gesteigert wird (Widnell und Tata 1966, Frieden und C.C. Ku 1971, Feigelson 1971 u.a.).

Inwieweit eine Abnahme der Proteinbiosynthese nach Kastration (Liao und Williams-Ashman 1962) in allen Geweben eintritt, scheint unklar (Ichii und Ikeda 1970).

Aus diesen Überlegungen läßt sich kein direkter Einfluß des Testosterons auf die regenerativen Prozesse nach Teilhepatektomie ableiten. BENGMARK und OLSSON (1964) bezweifeln jede Bedeutung des Testosterons für regenerative Prozesse des Leberparenchyms (s.a. Bucher 1963, 1967), zumal sie überhaupt keinen Einfluß des Testosterons auf die Leberproteinbiosynthese nachweisen konnten. Wenn eine Beeinflussung der DNS-Synthese durch Testosteron vorliegt,

so kann sie nach den bisherigen Befunden nur sekundäre Antwort auf erhöhte funktionelle Belastung sein. Die DNS-Synthese wird durch eine Orchidektomie nur geringfügig modifiziert. Eine mögliche Erklärung dieses Modifikation wäre der Protein- und RNS-Abfall als Zeichen einer verringerten Enzymsynthese oder -aktivität nach Kastration. Der durch die Teilhepatektomie bedingte plötzliche Mehrbedarf von Protein, Enzymen, RNS könnte dann nicht mehr gedeckt werden. Da aber die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß weder der Beginn der DNS-Synthese noch der Zeitpunkt der maximalen DNS-Syntheseaktivität nach Teilhepatektomie bei orchidektomierten Ratten beeinflußt werden, besitzt der mögliche Einfluß des Testosterons auf die Proteinbiosynthese für diese Syntheseprozesse wenig Bedeutung. Andererseits wird die DNS-Synthese durch eine Orchidektomie doch deutlich modifiziert. Diese Modifikation betrifft nicht die zeitliche Verschiebung des DNS-Synthesebeginns und des Zeitpunktes der maximalen Synthese, sondern die Anzahl der Hepatozyten, die sich zum Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese in der S-Phase befinden. 24 Stunden nach Teilhepatektomie ist der TdR^3H -Markierungsindex der Hepatozyten bei den orchidektomierten Tieren geringer als bei Kontrolltieren. Dagegen ist 30, 36, 42 Stunden nach der Teilhepatektomie der TdR^3H -Markierungsindex höher als bei den Kontrolltieren (Tab. 1, Tab. 4). Insgesamt 12 Stunden ist die Anzahl DNS-synthetisierender Zellen gleich hoch, bevor sie dann langsam abnimmt. Aus dem Verlauf der Kurve in Abb. 4 wird deutlich, daß es sich hierbei nicht um die Überlagerung zweier verschiedener DNS-Synthesemaxima handeln kann, da ein intermittierender Abfall zwischen den Maxima fehlt. Auch um zwei verschiedene Zellpopulationen, die sich nahezu gleichzeitig in der DNS-Synthesephase befinden, kann es sich nicht handeln, da die Methode der Autoradiographie eine

Differenzierung nach Zelltypen ermöglicht, und die 'Nicht-Hepatozyten' später in die S-Phase eintreten als die Hepatozyten (u.a. Grisham 1962, Bucher 1967). Einen etwas verlängerten Zeitraum der maximalen DNS-Synthese fand FABRIKANT (1968). Er betrug bei jüngeren Tieren (90 - 100 g KG) etwas länger als 4 Stunden. Bei älteren Ratten (240 g) fanden auch BUCHER und SWAFFIELD (1964) nicht mehr den ausgeprägten maximalen DNS-Synthese-peak wie bei jungen Tieren, aber auch nach ihren Ergebnissen ist der Zeitraum der maximalen DNS-Syntheseaktivität bei älteren Tieren wesentlich kürzer als im vorliegenden Fall. CATER und Mitarbeiter (1956) berichten über das Auftreten eines zweiten DNS-Synthesemaximums 34 - 35 Stunden nach Teilhepatektomie. Da sie aber nur die Aufnahme von ^{32}P in die DNS bestimmten, ist nicht festzustellen, ob es sich bei diesem zweiten DNS-Syntheseanstieg um die DNS von Hepatozyten oder anderen Zellen der Leber handelte.

Der plateauförmige Kurvenverlauf der maximalen DNS-Synthese bei Fehlen eines herausragenden peaks kann mehrere Ursachen haben. Es ist denkbar, daß die S-Phase der Hepatozyten verlängert ist. STÖCKER und PFEIFER (1965) berechneten für die S-Phase der Hepatozyten eine Dauer von etwa 7.2 Stunden, RABES und Mitarbeiter (1972) von 7.6 Stunden. Das entspricht einer Verkürzung der S-Phasen-Länge um etwa 50 % gegenüber der S-Phasenlänge in der ruhenden Leber (Stöcker 1966, Heine und Stöcker 1968). Eine Verlängerung der S-Phase im vorliegenden Fall würde dazu führen, daß zu späteren Zeitpunkten, 30 bzw. 36 Stunden nach Teilhepatektomie entsprechend mehr Zellen als markiert erfaßt werden, erstens die Hepatozyten, die sich noch in der S-Phase befinden und zweitens die Hepatozyten, die neu in die S-Phase eintreten.

Eine Beeinflussung der DNS-Synthese durch den Operationsstreß der Orchidektomie muß ebenfalls erwogen werden. MOOLTEN und Mitarbeiter (1970) hatten festgestellt, daß Streß, z.B. Operationsstreß, einen stimulierenden Einfluß auf die DNS-Synthese der Leber hat. Enzyme, denen eine Funktion im regenerativen Prozeß zugeschrieben wurde, wie z.B. die Ornithindecaboxylase (ORD), steigen nach Streß und anderen starken physischen Belastungen an (Russell und Snyder 1969, Schrock et al. 1970). Die Orchidektomie als Operationsstreß hat aber offenbar wenig Einfluß auf die DNS-Synthese, denn 72 Stunden später ist der Markierungsindex einer Gruppe von 3 Kontrolltieren (Laparatomie anstatt Hepatektomie) nicht angestiegen (0.25 %, 0.03 %, 0.02 % mark. Hepatozyten). Auch die Laparatomie selbst als Operation hat keinen Einfluß (Grisham et al. 1966).

Die Modifizierung der DNS-Synthese muß also offenbar durch den Wegfall der gonadalen Hormone erklärt werden, am wahrscheinlichsten über die Beeinflussung der S-Phasen-Länge. Für eine direkte Wirkung des Testosterons auf die DNS-Synthese ergibt sich aus den besprochenen Ergebnissen kein Anhalt, ebensowenig kann eine Erklärung in Termini der Proteinbiosynthese befriedigen.

Die Einflüsse der verstärkten ICSH-Sekretion nach Kastration der Einfluß des ACTH und die Veränderung durch den nach Kastration verminderten STH-Spiegel im Serum (Birge et al. 1967) auf die DNS-Synthese läßt sich mit dieser Versuchsanordnung nicht abgrenzen.

5. Zusammenfassung

Orchidektomie führt zu einem Konzentrationsabfall des im Hoden gebildeten androgenen Hormons Testosteron in Blut und Geweben.

Als Folge davon sezerniert die Hypophyse verstärkt die Hormone ICSH und ACTH, der Serumspiegel des Hormons STH sinkt.

Die Nebennierenrindenandrogene werden nach Orchidektomie vermehrt in das wesentlich wirksamere Androgen Testosteron umgebaut. Dieser Umbau geschieht u.a. auch in der Leber.

Diese aus der Literatur bekannten hormonellen Veränderungen nach Kastration führen nicht zu Veränderungen des DNS-Synthesebeginns der Leber nach Zweidrittelresektion.

Die DNS-Synthese erreicht 24 Stunden nach einer Teilhepatektomie ihren maximalen Wert.

Die Zahl DNS-synthetisierender Hepatozyten bleibt für weitere 12 Stunden gleichbleibend hoch und wird dann langsam niedriger. Als Ursache dieser Veränderungen wird eine Verlängerung der DNS-Synthese (S-Phase) für möglich gehalten.

Die Anzahl der DNS-synthetisierender Zellen ist zum Zeitpunkt maximaler DNS-Synthese geringer als bei Kontrolltieren.

Die Orchidektomie allein bewirkt keinen Anstieg der Zahl DNS-synthetisierender Zellen in der ruhenden Leber.

Kastration hat auf den Ablauf der regenerativen Prozesse nur einen geringen modifizierenden Einfluß.

Die Modifizierung der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber durch eine vorangegangene Orchidektomie stimmt nicht überein mit der Modifizierung die durch eine vorangegangene Hypophysektomie auf die DNS-Synthese der regenerierenden Leber ausgeübt wird.

VERSUCHE - Teil IV

DIE BEEINFLUSSUNG DER DNS-SYNTHESE IN DER REGENERIERENDEN LEBER DURCH ADRENALEKTOMIE

1. Einleitung

Eine Folge der Hypophysektomie ist die Atrophie der Nebennierenrinde (NNR) mit einem Abfall der NNR-Hormonkonzentration auf ein Niveau, das gerade noch für die Erhaltung lebenswichtiger Funktionen ausreichend ist. In Anbetracht der bekannten Hemmung der mitotischen Aktivität durch die Glucocorticoide (Bullough 1965, Guzek 1968) auch in der regenerierenden Leber (Perez-Tamayo et al. 1953, Horváth und Kovacs 1956, Hemingway und Cater 1958) kommt dem Regelkreis Zwischenhirn (RF) -Hypophyse (Corticotropin = ACTH) - NNR (Glucocorticoide) eine Bedeutung für die DNS-Synthese zu. Im folgenden Versuch soll der Einfluß einer beidseitigen Adrenalektomie auf die DNS-Synthese in der regenerierenden Leber geprüft werden. Ist ein Einfluß nachweisbar, soll geklärt werden, ob die Unterbrechung dieses Regelkreises Ursache der beobachteten zeitlichen Verschiebung der DNS-Synthese und maximalen Mitoseaktivität nach Hypophysektomie sein kann (Weinbren 1959, Rabes et al. 1965a, 1965b, Rabes und Brändle 1969).

2. Material und Methode

Männliche adulte Wistarratten von 220 - 240 g (mittleres Körpergewicht von 228 ± 6.7 g) wurden in Äthernarkose einer einseitigen, zweiseitigen (lateralen) Adrenalektomie unterzogen. Der Zugang zu den Nebennieren mittels lateralem Rippenbogenrandschnitt von Haut und Bauchdecken, erwies sich als schonendste Methode für die Tiere. Nach scharfer Trennung der Nebennieren aus dem umgebenden Fettgewebslager und den Gefäßen wurde makroskopisch die Vollständigkeit und Unversehrtheit der Nebennieren (NN) und der NN-Kapsel geprüft. Erschien die Vollständigkeit nicht gewährleistet, wurde das Tier nicht in den Versuch aufgenommen. Nach der Tötung wurde das NN-Lager auf zurückgebliebenes Gewebe geprüft, da schon ein Rest von nur 5 % Gewebe die NN-Funktion aufrecht erhalten kann (Hahn 1969).

Adrenalektomie führt an nicht substituierten Tieren durch Hyperkaliämie, Hyponatriämie, Schock und Kreislaufversagen unweigerlich zum Tod (Ganong 1971). Nur Hormone mit mineralocorticoider Wirkung können die Na-Transportrate beeinflussen und damit diese Entwicklung verhindern (Wiedeholt et al. 1966). Die Tiere erhielten daher eine Substitutions-therapie mit $20 \mu\text{g}$ d-Aldosteron-TMA in öliger Lösung (Ciba) pro Tag. Der Abstand der einzelnen Injektionen betrug immer 20 - 24 Stunden. Die i.m. Injektionen wurden im Anschluß an die Adrenalektomie, am folgenden Tag und nach der Hepatektomie durchgeführt. Tiere, die die Teilhepatektomie länger als 30 Stunden überleben sollten, erhielten eine zusätzliche Dosis am Tag nach der Hepatektomie. Die Berechnung der Hormondosis erfolgte auf der Grundlage der Angaben von PETERS (1959) und WIEDEHOLT und Mitarbeiter (1966).

48 Stunden nach der Adrenalektomie wurde eine Teilhepatektomie in Äthernarkose nach der Methode von HIGGINS und ANDERSON (1931) durchgeführt. Um einen gleichbleibenden Tötungszeitpunkt zur Vermeidung tagesrhythmisch bedingter Einflüsse zu erhalten, wurden die Operationszeiten variiert.

13, 17, 23, 29, 35, 41 Stunden nach der Operation erhielten die Tiere eine Injektion von $0.8 \mu\text{C}$ Thymidin = $^3\text{H/g KG}$ und wurden 60 Minuten später durch Nackenschlag getötet.

Die Tötungszeiten lagen zwischen 10.30h und 12.00 h vormittags. Tötung, Herstellung der Präparate und Autoradiogramme, verwendete Reagenzien und Auswertung der Autoradiogramme wurde im Kontrollversuch beschrieben.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Vorversuche

In Vorversuchen wurden folgende Fragen geklärt:

- a) Welche Art der Adrenalektomie hat die geringste Komplikationsrate?
- b) Wie lange überleben die Tiere eine Adrenalektomie ohne Substitution?
- c) Wie groß ist die Überlebenschance bei nachfolgender partieller Hepatektomie in Abhängigkeit vom Zeitraum zwischen beiden Operationen?
- d) Welche Form der Substitution setzt die Letalität möglichst weit herab, ohne selbst Einfluß auf die DNS-Synthese zu haben?

Zu a):

Der bilaterale Zugang zu den Nebennieren weist eine geringere Komplikationsrate bei nachfolgender Hepatektomie auf, als der ventrale, mediale Zugang.

Zu b):

Die Tiere überlebten die Adrenalektomie ohne Substitution 4 - 15 Tage. Der mittlere Überlebenszeitraum betrug 10.5 Tage. Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen von PETERS (1959) und HAHN (1969) überein, die Überlebenszeiten von Sprague-Dawley Ratten von 8.2 bzw. 13 Tagen mitteilen. Die Überlebensdauer steht in deutlichem Zusammenhang mit dem bei Ratten häufigen Vorkommen von akzessorischen Nebennieren. Bei Sprague-Dawley Ratten haben 18 % der Tiere akzessorisches NN-Gewebe und bei Long-Evans Ratten bis zu 50 % (Hahn 1969). Allgemein beträgt die Häufigkeit 7 - 25 % (Liebegott 1958) und ist von Tierstamm zu Tierstamm verschieden. Aus den hier gewonnenen Überlebenszeiten läßt

sich auf ähnliche Verhältnisse bei Wistar- wie bei Sprague-Dawley Ratten schließen.

Zu c):

Die Operationsletalität bei der Teilhepatektomie ohne Substitution von Hormonen war unabhängig von dem Intervall zwischen Adrenalektomie und Hepatektomie sehr hoch (s.a. Canzanelli et al. 1949). Die längsten Überlebenszeiten nach der Teilhepatektomie betrugen 18 - 24 Stunden. Daher war eine Substitutionsbehandlung unumgänglich.

Zu d):

Substitution von 0.9 %-iger NaCl-Lösung als Trinkwasser bzw. die Kombination von 0.9 %-iger NaCl-Lösung und in einer zweiten Flasche 5 %-ige Glucose-Lösung (Fazekas und Fazekas 1966) veränderte das unter Punkt c beschriebene Ergebnis nicht. Nach Gabe von täglich 20 µg d-Aldosteron-TMA (Ciba) überlebten die Tiere die Teilhepatektomie einen genügend langen Zeitraum. Der Zustand der Tiere war zu allen Zeitpunkten gut.

Exogenes Aldosteron soll eine Halbwertszeit von 20 Minuten haben und wird als Tetrahydroglucuronid durch die Niere ausgeschieden (Ganong 1971). Da es nur sehr geringe Glucocorticoid-Wirkung hat und selbst nicht antimitotisch aktiv ist (Bullough 1952, 1965), erscheint diese Art der Substitution in Hinblick auf die Fragestellung unbedenklich.

Der Versuchszeitraum zwischen den beiden Operationen wurde auf 48 Stunden festgelegt (s.a. Laurence und Hansen 1971, Ip und Brossard 1971). Der Lebercorticoidgehalt sinkt in zwei Tagen von 16.4 µg % auf 0.4 µg %, der allgemeine Gewebsindex ist von 23.2 µg % auf 4.1 µg % abgesunken (Fazekas und Fazekas 1966).

In den Vorversuchen wurde deutlich, daß die Adrenalektomie zu einer allgemeinen Gewichtsabnahme führt. Auch unter Aldosterongabe betrug die Gewichtsabnahme bis zur partiellen Hepatektomie etwa 10 g (von 228 ± 6.7 g auf 218 ± 10.5 g). Während FRANKE und Mitarbeiter (1971) die Gewichtsabnahmen nicht bestätigen konnten, berichten auch CANZANELLI und Mitarbeiter (1949a), daß zwei Monate alte Ratten sowohl nach Hypophysektomie als auch nach Adrenalektomie weniger Nahrung aufnehmen. Ob die Gewichtsabnahme auf ungenügende Nahrungsaufnahme oder -verwertung zurückzuführen ist, bleibt offen (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5:
Gewichtsabnahme und Überlebenszeit adrenalektomierter Ratten ohne Substitution (Beispiele)

Tage					
0	215	223	234	245	244
2	198	200	209	226	221
4	189	186	191	218	212
6	187	180	175	208	207
8	182	177	161	209	207
10	178	171	---	198	200
12	165	162	---	185	194
14	151	---	---	---	178
15	---	---	---	---	175
	-64g	-61g	-73g	-60g	-69g
=	29.7 %	27.3 %	31.2 %	24.5 %	28.2 %

3.2. Markierungsindex der Hepatozyten nach Adrenalektomie

Die Auswertung der Autoradiogramme und die DNS-Markierungsindices der einzelnen Tiere sind in Tabelle 6 und 7 dargestellt. Eine graphische Darstellung der mittleren Markierungsindices innerhalb der Gruppen und die Gruppenstärke gibt die Abbildung 5.

Es wird deutlich, daß die DNS-Synthese eher einsetzt als bei den Kontrolltieren (Abb. 1) und auch kastrierten, hungernden oder hypophysektomierten Tieren (Teil I,II,III,IV) 14 Stunden nach Teilhepatektomie befinden sich schon über 2 % der Zellen in der S-Phase und der Beginn der DNS-Synthese ist in den Zeitraum 12 - 14 Stunden nach Teilhepatektomie zu legen. Sie beginnt damit früher, als es die Berichte anderer Untersucher für unbehandelte Tiere erwarten lassen (Bucher et al. 1964, Brändle 1966, Fabrikant 1968, Rabes und Brändle 1969, u.a.). Über ein ähnlich frühes Einsetzen der DNS-Synthese berichten GRISHAM (1962) und BUCHER und Mitarbeiter (1964) von wesentlich jüngeren Tieren. Der Beginn der DNS-Synthese entspricht damit ungefähr dem 'juvenilen' Typ von Tieren, bei denen physiologischerweise während der Wachstumsphase noch der 'schnelle' Proliferationsmodus vorherrscht (Stöcker und Pfeifer 1965, Stöcker 1966). Bei Tieren der Altersgruppe 220 - 240 g Körpergewicht geschieht die Umschaltung auf diesen Proliferationsmodus erst 18 Stunden nach der Teilhepatektomie, vorausgesetzt, daß mehr als 7 % der Zellen in der S-Phase sind (Stöcker 1966). Es bleibt zu prüfen, ob eine Adrenalektomie in diesem Punkt die Verhältnisse bei älteren Tieren im Sinne einer 'Verjüngung' ändert.

Der Anstieg zum Maximum der Zahl DNS-synthetisierender Hepatozyten geschieht schnell. 18 Stunden nach der Teilhepat-

Tabelle 6:

TdR³H-Markierungsindices der Hepatozyten adrenaletomierter Ratten in verschiedenen Intervallen nach Teilhepatektomie mit Standardabweichung und mittlerem Fehler des Mittelwertes.

n = Anzahl der Tiere

$\bar{x}$ = Mittelwert des Markierungsindex der Tiere einer Gruppe

sx = Standardabweichung

$\bar{sx}$ = Mittlerer Fehler des Mittelwertes

	Zeit nach Teilhepatektomie				36	42
	14	18	24	30		
	0.21 %	13.14 %	36.42 %	47.04 %	22.81 %	16.12 %
	8.60	27.04	32.42	17.95	53.55	23.17
	1.24	10.87	33.42	27.97	24.62	23.98
	0.26	15.26	42.74	22.68	21.18	24.02
	1.44	4.43	29.28	16.48	23.25	15.27
	0.97	5.88	35.38	33.61	23.62	15.56
		25.65	52.11	22.05		
n =	6	7	7	7	6	6
$\bar{x}$ =	2.12 %	14.61 %	37.39 %	26.82 %	28.17 %	19.68 %
sx =	± 3.21	± 8.87	± 7.74	± 10.67	± 12.48	± 4.47
$\bar{sx}$ =	± 1.31	± 3.35	± 2.92	± 4.03	± 5.09	± 1.82

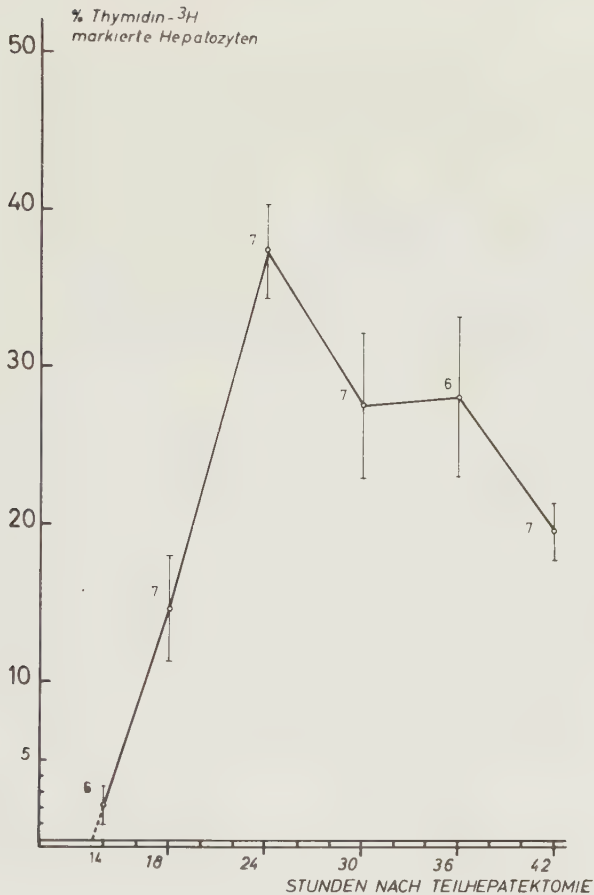


Abbildung 5:

DSN-Synthese in der regenerierenden Leber adrenaletomierter Ratten in Abhängigkeit von der Zeit nach Teilhepatektomie. Prozent Thymidin-6-³H markierter Zellen (7000 ausgezählte Hepatozyten pro Versuchstier).

Mittelwerte innerhalb einer Gruppe (0), Anzahl der Tiere an den Kurvenpunkten. Vertikale Linien: mittlerer Fehler des Mittelwertes.

hepatektomie sind bereits 14 % der Zellen markiert, nach 24 Stunden mit 37 % markierter Zellen der Zeitpunkt der maximalen Synthese erreicht. Diese schnelle Zunahme der Zahl DNS-synthetisierender Zellen entspricht wiederum den Verhältnissen bei sehr jungen Tieren (Bucher und Mitarbeiter 1964), wie auch den Kontrolltieren (Abb. 1) (s.a. Rabes und Brändle 1969). Völlig andere Verhältnisse zeigt dagegen die DNS-Synthese bei hungernden Ratten und bei hypophysektomierten Ratten, die mit STH substituiert werden (Teil II und VI).

Der Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese liegt ungefähr bei 24 Stunden nach Teilhepatektomie, aufgrund der Versuchsanordnung ist nicht sicher zu sagen, ob sie noch zunimmt oder ob das Maximum bereits überschritten ist.

Der mittlere Markierungsindex von 37.39 % liegt wesentlich über den bisher beschriebenen Werten bei Tieren gleichen Alters (Cater et al. 1956, Grisham 1962, Brändle 1966, Rabes und Brändle 1969, Tuczek 1970). Gegenüber den Kontrolltieren mit einem Markierungsindex von 22.97 %, den kastrierten Tieren mit 17.45 % und den STH substituierten hypophysektomierten Tieren mit 28.60 % (Teil I, III, VI) ist die maximale Synthese um 60 - 90 % erhöht. Daraus ergibt sich eindeutig, daß zum Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese nach Teilhepatektomie bei adrenalektomierten Tieren wesentlich mehr Zellen DNS-synthetisieren, als bei Tieren mit intakten Nebennieren. Die Frage erhebt sich, welches durch Adrenalektomie betroffene Hormon diese Steigerung der DNS-Syntheseaktivität bewirkt.

In den Nebennieren der Ratte werden Aldosteron, Corticosteron (wenig Cortisol) und Dehydroepiandrosteron in physiologisch relevanten Mengen gebildet. Im Nebennierenmark sind dies Adrenalin und Noradrenalin. Nach Adrenalektomie sind die Blutspiegel dieser Hormone erniedrigt, die ACTH-Ausschüttung aus der Hypophyse dagegen gesteigert.

Aldosteron ist in diesem Versuch substituiert worden. Androgene werden weiterhin in den Hoden gebildet und ihr Einfluß auf die DNS-Synthese ist ohnedies gering (siehe Teil III).

Die regenerierende interessante Wirkung des ACTH läuft wahrscheinlich über die Corticosteroid-Freisetzung ab und wird weiter unten diskutiert, die extraadrenalen Wirkungen des ACTH wie Lipolyse im Fettgewebe und Steigerung der Insulinsekretion (Scriba und Schwarz 1970) berühren die DNS-Synthese sicherlich nicht direkt.

Das NN-Mark-Hormon Adrenalin ist nach BULLOUGH (1965) selbst kein Mitosehemmer und auch HEMINGWAY (1964) mißt den Katecholaminen keine mitosespezifische Bedeutung zu. Er wies nach, daß die Mitosehäufigkeit eher durch Vorhandensein bzw. Nicht-Vorhandensein der NNR als des NNM beeinflußt wird. Adrenalektomie 24 Stunden vor Hepatektomie erhöht die Anzahl der Mitosen zum Zeitpunkt maximaler Mitoseaktivität nach Teilhepatektomie von 30 - 40/1000 auf 70 - 80 Mitosen/1000 Zellen. (Auch Taleisnik 1953b, Horvath und Kovacs 1956, Raab und Webb 1969). Umgekehrt wiesen RIZZO und Mitarbeiter (1971) nach, daß eine einmalige Gabe von Hydrocortison, 12 bzw. 19 Stunden nach Teilhepatektomie gegeben, die DNS-Synthese zum maximalen Zeitpunkt 26 Stunden p.op. um 80 % erniedrigt. Nach GUZEK (1968) ist durch diese Hormongabe der Einbau des Thymidin in die DNS und damit auch die Synthese der Nucleinsäure gehemmt worden (siehe unten).

Die Hemmung der DNS-Synthese nach Glucocorticoidgabe um etwa 80 % steht in guter Übereinstimmung mit der Zunahme der DNS-Synthese um 60 - 90 % nach Adrenalektomie. Die Glucocorticoide scheinen daher in einem gewissen Bereich

für die Höhe der DNS-Synthese verantwortlich zu sein; die Senkung des Glucocorticoidspiegels durch Adrenalectomie dürfte die Ursache der gesteigerten DNS-Synthese sein. Die Höhe des Steroidspiegels ist nach HEMINGWAY (1960) für die Wachstumsgeschwindigkeit wesentlich, wie er an Untersuchungen mit Walker-Tumoren nachwies.

Durch das vorliegende Ergebnis kann die Meinung von CANZANELLI und Mitarbeiter (1949a) bestätigt werden, daß nach Adrenalectomie in der regenerierenden Leber eine höhere Nucleinsäuren-Konzentration gegenüber Kontrollen zu finden ist und mit dem Nachweis der nahezu verdoppelten DNS-Synthese kann auch eine Erklärung für die beschleunigte Zellvermehrung bzw. doppelte Mitoserate gegeben werden (Hemingway 1960; f.d.Epidermis Bullough 1965). Die Leberregeneration insgesamt soll aber durch die anfängliche Beschleunigung der DNS-Synthese und Mitoserate nicht beeinflußt werden (Canzanelli et al. 1949a, Ferrari und Harkness 1954, Hemingway 1960).

Beseitigung inhibitorischer Komponenten durch Adrenalectomie beschleunigt allein noch nicht die DNS-Synthese (Hemingway 1960). Soll die DNS-Synthese gesteigert werden, muß ein Regenerationsreiz wie z.T. Teilhepatektomie folgen (Moolten et al. 1970). Bei drei Tieren wurden die Nebennieren entfernt, Aldosteron substituiert aber nur eine Laparatomie durchgeführt. 24 Stunden später beträgt der TdR³H-Markierungsindex 1.66 % (Tabelle 7). Die Adrenalectomie allein hat also nur zu einer sehr geringen Zunahme der Zahl DNS-synthetisierender Zellen geführt. Ohne Adrenalectomie mit Aldosteron substituierte Ratten zeigen nach Teilhepatektomie 24 Stunden p.op. einen mittleren Markierungsindex von 17.51 % (Tabelle 7).

Die Höhe des Markierungsindex entspricht zwar nicht völlig den Werten der Kontrollen, ist aber dennoch im Bereich der bekannten Werte. Die Zahl von 3 Versuchstieren ist zu gering, um sichere Aussagen treffen zu können, aber ausreichend, um Anhaltspunkte zu liefern. Die Höhe des Markierungsindex (17.51 %) gibt einen weiteren Hinweis, daß Aldosteron keinen DNS-Synthese- oder Mitosefördernden Einfluß hat (Bullough 1965).

Andererseits zeigt die zweite Kontrollgruppe mit dem Markierungsindex von 1.66 % eine geringe Erhöhung der Zahl der Hepatozyten in der S-Phase gegenüber Vergleichsgruppen (siehe Teil III, Tabelle 4, Gruppe 24 K mit 0.10 % markierter Zellen). Diese Steigerung kann zwar durch Aldosterongabe bewirkt, wie aber auch Folge des Operationsstresses der Adrenalektomie sein (Moolten et al. 1970).

Streß und streßreiche Behandlung bewirken in der Leber teilweise ähnliche Veränderungen wie der Hepatektomie-Reiz: Anstieg der Proteinproduktion, wie Albumin und Fibrinogen, von Enzymen, wie der Ornithindecaboxylase, Steigerung der RNS-Polymeraseaktivität, Beschleunigung des ATP-Metabolismus und Anstieg des RNS-Gehaltes (Majumdar et al. 1967, Ove et al. 1971, Schrock et al. 1971; weitere Literatur bei Grundmann und Seidel 1969), Stimulierung der STH-Sekretion (Charters et al. 1971, Echave Llanos et al. 1971b) und anderes. Diese Veränderungen sind, wenn sie durch Streß ausgelöst werden, vom Vorhandensein der Nebennieren abhängig (Majumdar et al. 1967, Ove et al. 1971).

Tabelle 7:

Darstellung der TdR^3H -Markierungsindices zweier Kontrollgruppen und zweier Einzeltiere.

Gruppe A: Scheinadrenalektomie, Aldosteronsubstitution teilhepatektomie 48 Stunden nach der Scheinadrenalektomie

Gruppe B: Adrenalektomie, Aldosteronsubstitution, Laparatomie 24 Stunden nach der Adrenalektomie

In beiden Gruppen Bestimmung des TdR^3H -Markierungsindex 24 Stunden nach Hepatektomie bzw. Laparatomie.

$\bar{x}$ = Mittelwert

sx = Standardabweichung

$s\bar{x}$ = Mittlerer Fehler vom Mittelwert

	Tier		$\bar{x}$	sx	$s\bar{x}$
A	WN-KH 1	21.48 %			
	WN-KH 3	13.11 %	17.51 %	± 4.20	± 2.42
	WN-KH 4	17.94 %			
B	WN-K 1	1.34 %			
	WN-K 2	1.28 %	1.66 %	± 0.60	± 0.34
	WN-K 3	2.36 %			
	WN I	30.71 %	5 Tage 0.9 %-ige NaCl-Lösung als Trinkwasser, Adrenalektomie, 24 Std. später Teilhepatektomie, Tötung 27 Std. nach der Operation		
	WN III	0.82 %	Adrenalektomie durch medialen Bauchschnitt, 24 Std. später Teilhepatektomie, 18 Std. später Tötung		

Die DNS-Synthese nach Teilhepatektomie ist bei Fieren, die vorher gestreßt wurden, deutlich erhöht (Noolten et al. 1970, Simek et al. 1968), aber ohne Teilhepatektomie ist keine Stimulierung festzustellen (Noolten et al. 1970; s.a. Versuch III, Tab. 4). Die ausgeprägte positive Wirkung des Streß auf den Protein- und RNS-Metabolismus bei wenig Wirkung auf die DNS-Synthese der ruhenden Leber entspricht ziemlich genau dem Wirkungsspektrum der Glucocorticoide an der Leberzellen (s.u.).

Die gefundene Erhöhung der DNS-Synthese bei den adrenaletomierten und laparatomierten Tieren ist demnach am ehesten auf den Hormonausfall zu beziehen, weniger auf den Operationsstreß und die Aldosteronsubstitution.

Nicht nur zum Zeitpunkt der maximalen Synthese ist die Zahl der DNS-synthetisierenden Hepatozyten höher als bei den Vergleichsgruppen, sondern auch zu späteren Zeitpunkten 30, 36 und 42 Stunden nach der Teilhepatektomie. Der Abfall ist weit geringer als der Anstieg (s.a. Grisham et al. 1966), und 42 Stunden nach dem Eingriff findet sich ein TdR^3H -Markierungsindex, der ebenso hoch ist, wie der Maximalwert bei kastrierten Tieren 24 Stunden nach der partiellen Hepatektomie.

Die Betrachtung der Einzelwerte der Tiere innerhalb einer Gruppe zeigt, daß die größten Abweichungen vom Mittelwert zu den Untersuchungszeiten 24, 30, 36 Stunden oberhalb des Mittelwertes liegen. Einzeltiere haben einen Markierungsindex von 52 und 53 %. Diese Werte konnten bei keiner anderen Versuchsanordnung gefunden werden. Daß der Mittelwert dennoch erheblich tiefer liegt, mag auch dem Umstand zuzuschreiben sein, daß bei einigen Tieren akzessorisches NNR-Gewebe den Markierungsindex beeinflusst

haben könnte, d.h. durch noch vorhandenes Corticosteron die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen niedrig gehalten wurde. Die Tatsache, daß auch noch 36 Stunden nach dem Eingriff der Markierungsindex von 53 % gefunden werden kann, also ein höherer Wert als zum Zeitpunkt des Synthesemaximums (52 %), kann durch eine Asynchronie des Eintritts der Zellen in die S-Phase erklärt werden. Nach Teilhepatektomie wird für die Leberzellen die G1-Phase vorzeitig unterbrochen (Stöcker und Pfeifer 1967) und sie treten in die S-Phase ein. Die Anzahl der Zellen, die in die S-Phase eintritt, ist bei jüngeren Tieren größer als bei älteren (Bucher 1967), die Reaktion der Zellen verläuft bei ihnen also mehr synchron. Diese Synchronisation konnten RIZZO und Mitarbeiter (1971) auch experimentell erreichen, indem sie durch Hydrocortisongabe die DNS-Synthese nach Teilhepatektomie weitgehend unterdrückten. Erst nach Wirkungsverlust der einmaligen Hormondosis treten die Hepatozyten um 11 Stunden verzögert sofort hochsynchron in die DNS-Synthese ein. Daraus ist zu folgern, daß bei ausbleibender Hemmung der DNS-Synthese durch Glucocorticoide die Reaktion der Zellen auf den Hepatektomiereiz weitaus weniger synchron verlaufen könnte, so daß bei einzelnen Tieren der Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese später erreicht wird, als bei den übrigen Tieren des Kollektivs. Die durch Alter und Wegfall der Hormone bedingte Asynchronie könnte eine Erklärung für die extrem hohen TdR^3H -Markierungsindices der späten Untersuchungszeiträume sein.

FABRIKANT (1968) fand bei jungen Tieren zum Zeitpunkt der maximalen Synthese ebenfalls einen TdR^3H -Markierungsindex von $44 \% \pm 11.5$ (Standardabweichung). Hier könnte die Tatsache, daß bei diesen Tieren das Entwicklungs-

wachstum noch nicht abgeschlossen ist, für diesen hohen Markierungsindex verantwortlich sein.

Die Tatsache des frühen DNS-Synthesebeginns, der steile Anstieg und die große Zahl der DNS-synthetisierenden Hepatozyten 24 Stunden nach der Teilhepatektomie können als Indizien für die Vorstellung gelten, daß die Adrenalektomie zu einer gewissen 'Verjüngung' der regenerativen Antwort nach Teilhepatektomie führt. Dagegen spricht, daß der Zeitpunkt der maximalen Syntheseaktivität früher liegt, die beschriebene Asynchronie und besonders die lange anhaltend hohe DNS-Synthese bis zu dem Zeitpunkt, wo bei jungen Tieren bereits ein zweites DNS-Synthesemaximum auftritt (Bucher et al. 1964).

3.3. Die Wirkung von Glucocorticoiden und Adrenalektomie auf die Leberzellen

Die Veränderungen der DNS-Synthese in der Leber adrenalectomierter Ratten scheint durch den Ausfall der Glucocorticoide bedingt zu sein. Es soll daher ein kurzer Überblick über die möglichen Einflüsse der Glucocorticoide auf den proliferativen Prozeß bzw. die vorbereitenden Schritte gegeben werden.

3.3.1. Glucocorticoide und DNS-Synthese

Glucocorticoide hemmen das Wachstum einer Anzahl von normalen und neoplastischen Geweben (Rizzo et al. 1971) und hemmen regenerative Prozesse in vielen Organen wie z.B. des Bindegewebes und des Leberparenchyms (Perez-Tamayo et al. 1953). Die Hemmwirkung der Glucocorticoide (= anti-mitotische Wirkung) ist nur vorübergehend (Einhorn et al. 1954, Henderson et al. 1971, Rizzo et al. 1971) und soll nicht mitosespezifisch sondern gewebespezifisch sein (Roberts et al. 1952, Bullough 1965). BOULLOUGH (1965) setzt eine große Hormondosis voraus, wenn eine Hemmung auf die Mitose ausgeübt werden soll, während HENDERSON und Mitarbeiter (1971) feststellten, daß die wachstumshemmende und DNS-Synthese-hemmende Dosis dicht an der 'physiologischen' Dosis liegt. Gabe von Glucocorticoiden führt bei einmaliger oder sehr kurzer Anwendung nicht zu einem Abfall des DNS-Gehaltes pro Kern, sondern verringert die DNS-Neosynthese (in der Leber: Guzek 1968, Henderson et al. 1971; im lymphatischen Gewebe: Stevens et al. 1966) solange ein genügend hoher Hormonspiegel gewährleistet ist. Sofort nach Wirkungsabfall setzt bei vorhandenem Synthesereiz,

z.B. nach Teilhepatektomie, eine stark synchrone DNS-Synthese in den Leberzellen ein. RIZZO und Mitarbeiter (1971) fanden bei Hormongabe bis zu 18 Stunden nach Teilhepatektomie den Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese um 11 Stunden auf 36 Stunden nach der Operation verschoben. FEIGELSON und Mitarbeiter (1962) sahen in der regenerierenden Leber bei Glucocorticoid-Gabe nach der Operation einen kurzen Anstieg in der DNS-Syntheseaktivität mit sofortigem Abfall auf die bekannten Werte. Es scheint fraglich, ob es sich bei diesem beobachteten DNS-Synthese-Anstieg nicht um die von OENLERT und Mitarbeiterⁿ(1962) und STÜCKER (1966) beschriebene geringe Syntheseaktivitätszunahme 6 Stunden nach Teilhepatektomie handelt und somit kein Steroideffekt ist (Feigelson und Mitarbeiter (1962) benutzen überdies nicht das für die Ratte spezifische Corticosteron sondern Cortison-acetat).

3.3.2. Glucocorticoide und Proteinmetabolismus

Im Gegensatz zur ausgeprägten DNS-synthesehemmenden Wirkung der Glucocorticoide steht ihr gleichzeitiger anaboler, RNS- und Protein-Synthese stimulierender, Effekt sowie die Glycogen-Glucose-Bildung (Einhorn et al. 1954, Feigelson et al 1962, Henderson et al. 1971). Die Gesamtmasse der regenerierenden Leber bleibt bei Hormongabe trotz Depression der Zellzahl ebenso hoch wie bei Tieren ohne Hormonsubstitution (Einhorn et al. 1954). Das Gewicht des Regenerats ist bei weniger Zellen gegenüber den Kontrollen erhöht (Perez-Tamayo et al. 1953). Dieser Effekt wird bewirkt durch Zytoplasmavermehrung ohne Veränderung des Kernes (Perez-Tamayo et al. 1953, Cherry et al. 1954, Bucher 1963). Cortisongabe führt zu extensiver Vakuolisierung, Glykogenzunahme und vermehrter Lipideinlagerung, woraus

ein höheres mittleres Zellgewicht resultiert (Einhorn et al. 1954, Roberts et al. 1952). Gleichzeitig werden im Gegensatz zu vielen anderen Geweben, in denen Glucocorticoide proteinkatabol wirken, in der Leber verstärkt Proteine neu gebildet (Hechter und Halkerston 1965). Dazu gehören Enzyme wie die Tryptophan-Pyrrolase, Xanthinoxidase, verschiedene Transaminasen und die Schlüsselenzyme der Glykogenneogenese wie Glucose-6-Phosphatase, Pyruvat-Carboxylase u.a. (Feigelson et al. 1962, Hechter und Halkerston 1965, Watanabe et al. 1968, Sunshine et al. 1971 u.a.). Diese Proteinbiosynthese unter Glucocorticoidgabe ist in der regenerierenden Leber zu allen untersuchten Zeitpunkten größer als bei den Kontrollen (Rizzo et al. 1971). Gleichzeitig mit der Proteinzunahme findet eine Zunahme an RNS statt. Diese Zunahme ist in erster Linie Folge einer vermehrten RNS-Polymeraseaktivität (Yu und Feigelson 1971). Im Nucleolus steigt unter Glucocorticoidgabe die Aktivität der Mg^{2+} und der Mn $(NH_4)_2SO_4$ abhängigen RNS-Polymerasen (Jacob et al. 1969, Yu und Feigelson 1971; durch Hormone: Widnell und Tata 1966), während im Kern die Aktivität der DNS abhängigen RNS-Polymerase zunimmt (Hechter und Halkerston 1965, Enwonwu et al 1971). Diese Aktivitätssteigerung ist Folge einer Enzymneosynthese, da sie durch Puromycin unterdrückt werden kann (Yu und Feigelson 1971). Insgesamt werden alle bekannten RNS-Arten vermehrt synthetisiert bzw. ist der ^{32}P Einbau in die RNS beschleunigt (Feigelson et al. 1962, Jacob et al. 1969, Ip und Brossard 1971, Rizzo et al. 1971). RIZZO und Mitarbeiter (1971) fanden nur eine geringe Stimulation der 45 s Präkursoren der RNS, während JACOB und Mitarbeiter (1969) eine Steigerung des Orotsäure-Einbaus in die 45 s RNS nachwiesen und YU und FEIGELSON (1971) ausschließlich eine Zunahme der nucleolären RNS beobachte-

ten. Glucocorticoide bewirken also sowohl eine Zunahme der RNS als auch der Proteine und damit einen vermehrten Aminosäureumsatz. HECHTER und HALKERSTON (1965) glauben daher, daß Cortison unter anderem den Aminosäuretransport positiv beeinflußt. Nach RIZZO und Mitarbeiter (1971) wird auch der Transport der r-RNS beschleunigt. Ein Ansatzpunkt der Hormone könnte daher durchaus der intrazelluläre Transport, bzw. die Transportrate sein (Feigelson et al. 1962, Hechter und Halkerston 1965, Watanabe et al. 1968, Rizzo et al. 1971).

Morphologisch ist auffallend, daß die basophilen Schollen des Zytoplasma verteilt werden (Bucher 1963) und eine starke Akkumulation von Ribosomen im Zytoplasma auftritt (Rizzo et al. 1971). Unter Steroidgabe steigt die Anzahl der Ribosomen, während der Eintritt der Zellen in die S-Phase blockiert wird. RIZZO und Mitarbeiter (1971) vermuten, daß diese r-RNS Zunahme gegenüber Kontrolltieren auf einer erhöhten Abbaurate bei diesen beruht. Die Akkumulation von Ribosomen im Zytoplasma und die erhöhte Proteinsynthese ist ein Hinweis darauf (Palade und Siekevitz 1956), daß Ribosomen, die keinen Membrankontakt haben, sondern frei im Zytoplasma liegen, in erster Linie Proteine für intrazelluläre Zwecke produzieren. Dies träfe ja in diesem Fall mit der Enzymneosynthese zu.

3.3.3. Wirkung der Adrenalektomie auf Metabolismus und Morphologie der Leber

Die Glucocorticoidwirkungen wie Hemmung der DNS-Synthese, Steigerung von Protein und RNS-Synthese sollten durch Adrenalektomie, also, Senkung des Hormonspiegels auf subnormale Werte, aufhebbar sein. BERMAN und Mitarbeiter (1947) beobachteten nach Adrenalektomie an jungen Tieren eine Ab-

nahme der Zellmasse, Gewichtsverlust der Leber, verminderte Glykogen-, Protein- und Lipideinlagerungen (auch Bucher 1963). Die Proteinsynthese wird nach kurzer Zunahme sehr bald geringer und kann nicht mehr im gleichem Umfang aufrechterhalten werden (Ingle 1950, Korner 1960). Der Mangel an Glucocorticoiden führt peripher zu geringerem Proteinabbau und daher zu ungenügender Verfügbarkeit von Aminosäuren (Korner 1960). Für eine optimale Proteinsynthese in der Leber sind Glucocorticoide (Lee und Williams 1952) notwendig.

Die Wirkung der Hormone auf die DNS-Synthese ist nach den vorliegenden Ergebnissen durch Adrenalektomie ebenfalls aufzuheben. Demzufolge steigt auch die Mitosezahl an (Horwath und Kovacs 1965).

Die an der Leber von Ratten erhobenen Befunde sind aber nicht ohne Einschränkung auf andere Organe und andere Tierpezies zu übertragen, da z.B. CHERRY und Mitarbeiter (1954) an der Leber von Meerschweinchen keine qualitativ oder quantitativ verwertbare Änderungen der mitotischen Aktivität nach Adrenalektomie finden konnte.

Die elektronenmikroskopischen Befunde entsprechen teilweise den oben beschriebenen Veränderungen. Nach Cortison-Gabe fanden RANCOURT und LITWACK (1968), daß Kern und Mitochondrien unverändert bleiben, die Ribosomen sich aber von den Membranen lösen, das rauhe endoplasmatische Retikulum sich in glattes endoplasmatisches Retikulum umwandelt und die Glykogenspeicher vergrößert werden. Umgekehrt nehmen nach Adrenalektomie die Glykogenfelder ab und nach Schwund des glatten endoplasmatischen Retikulums legt sich das vermehrte rauhe endoplasmatische Retikulum in langen Ketten zusammen. Völlig andere Befunde teilen FRÄNKE und Mitarbeiter (1971) mit. Sie fanden als erste Veränderung nach

Adrenalektomie eine Vakuolenbildung des endoplasmatischen Retikulums und 11 bzw. 30 Tage nach der Adrenalektomie eine deutliche Zunahme des Polysomen und große Bereiche isolierter Poly- und Ribosomen. Sie deuten dies als Ausdruck einer gesteigerten zellulären Proteinsynthese. Diese findet aber nach KORNER (1960) nicht statt.

3.3.4. ACTH-Einfluß auf DNS-Synthese

Nach Adrenalektomie ist die ACTH-Ausschüttung der Hypophyse reaktiv erhöht. Es muß daher abgeklärt werden, ob die beschriebenen Veränderungen der DNS-Synthese nicht direkte Folgen der höheren ACTH-Konzentration sind. Den bisher beschriebenen Versuchen, in denen nach ACTH-Gabe und Teilhepatektomie eine erhöhte DNS-Synthese gefunden wurde (Simek et al. 1968), stehen Versuche gegenüber, die keine Beeinflussung der DNS-Synthese nachweisen konnten (Moolten et al. 1970). SIMEK und Mitarbeiter (1968) hatten aber die Nebennieren nicht ausgeschaltet.

Eindeutig scheint jedenfalls zu sein, daß die ACTH-Wirkung auf die DNS-Synthese durch die Vermittlung der Glucocorticoide ausgeübt wird (Guzek 1968, Simek et al. 1968). MOOLTEN und Mitarbeiter (1970) ziehen aus ihren Untersuchungen den Schluß, daß eine unterstützende Funktion der Nebennieren auf die DNS-Synthese nicht ausgeschlossen werden kann, solange keine operative oder pharmakologische Entfernung der Nebennieren möglich ist, die selbst jeden beeinflussenden Effekt vermissen läßt. Diese Vorbehalte können aufgrund der vorliegenden Untersuchungen nicht geteilt werden, da ja eine einwandfrei hemmende Wirkung der Nebenniere auf die DNS-Synthese gefunden wurde.

3.3.5. DNS-Synthesehemmung durch Glucocorticoide

Da die hemmende Wirkung der Glucocorticoide in der Leberzelle nur bei der DNS-Synthese ausgeprägt nachgewiesen werden kann, scheint der Angriffspunkt der Hormone in einer Interferenz zum DNS-Syntheseprozess zu liegen (Einhorn et al. 1954)

Die beiden gegen eine Interferenz besonders empfindlichen Zeitpunkte im Mitosezyklus sind die Phase des schnellen DNS-Syntheseanstiegs und der Beginn der eigentlichen Mitose (Bullough 1965, Raab und Webb 1969). Dabei ist noch unklar, wie diese Interferenz geschieht, ob entweder ein normalerweise stimulierender Faktor verändert wird (Horvath und Kovacs 1956) oder ob durch eine Steroid-Protein-Wechselwirkung eine Proteinkomponente des Syntheseprozesses ihre katalytische Aktivität verliert (Hechter und Halkerston 1965, Stevens et al. 1966); der zelluläre Basismechanismus jedenfalls ist noch unbekannt (Guzek 1968, Labhart 1971). Die Vorstellungen zur stimulierenden Wirkung der Glucocorticoide sind ebenso unterschiedlich: direkte Beeinflussung des Gen-locus und Erhöhung der template (Weiss und Kavenau 1957) Aktivität der DNS, Stimulierung der Transportrate von Aminosäuren und RNS, Beeinflussung des Vorläufer-Pools, Abbauhemmung von RNS, Enzymen und anderen zellulären Untereinheiten usw. (Feigelson et al. 1962, Bullough 1965, Hechter und Halkerston 1968, Watanabe et al. 1968, Rizzo et al. 1971; Übersicht bei Labhart 1971). Eindeutig nachgewiesen wurde, daß Glucocorticoide den Einbau von Thymidin in die DNS verschiedener Gewebe hemmt (Stevens et al. 1966, Guzek 1968). Die Hemmung der Nucleinsäuresynthese verläuft zum Grad der Mitosehemmung parallel, da die Mitose nicht beginnen kann, bevor die DNS-Synthese beendet ist (Einhorn

et al. 1954, Guzek 1968). Die Einbauhemmung von Thymidin in die DNS ist nach Adrenalektomie offenbar weitgehend aufgehoben, so daß eine größere Anzahl Thymidin-³H markierter DNS-synthetisierender Hepatozytenkerne im Autoradiogramm nachweisbar ist.

4. Zusammenfassung

Adrenalektomie führt zu einem Abfall der Glucocorticoidspiegel in Blut und Geweben. Reaktiv ist die Ausschüttung von ACTH aus der Hypophyse erhöht.

Die DNS-Synthese nach partieller Hepatektomie bei adrenalektomierten Ratten beginnt eher als bei nicht adrenalektomierten Kontrolltieren. Die Anzahl DNS-synthetisierender Zellen ist 24, 30, 36, 42 Stunden nach der Teilhepatektomie höher als bei Kontrolltieren und bei Tieren, die vor der Teilhepatektomie anderen Versuchsbedingungen wie Kastration, Hunger und Hypophysektomie ausgesetzt waren. Die Steigerung der DNS-Synthese in diesem Fall scheint am ehesten Folge des Wegfalls inhibitorischer Wirkungen der Glucocorticoide zu sein. Diskutiert wurden die Einflüsse des ACTH, der NNR-Androgene, des Operationsstressses sowie die Wirkung der substituierten Mineralocorticoide. Gegenüber der Wirkung der Glucocorticoide scheinen diese Einflüsse insgesamt ohne entscheidende Bedeutung zu sein.

Der Verlauf der DNS-Syntheseaktivität nach Teilhepatektomie bei 220 - 240 g schweren adrenalektomierten Ratten zeigt gewisse Ähnlichkeit zum Verlauf der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie an wesentlich jüngeren Tieren.

Die Veränderungen in der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie an adrenalektomierten Ratten entsprechen nicht den Veränderungen, die in der DNS-Syntheseaktivität nach Teilhepatektomie bei hypophysektomierten Tieren beobachtet wurden. Der Einfluß einer Hypophysektomie auf die Leberregeneration scheint nicht über die NNR ausgeübt zu werden.

Teil V ÜBERLEGUNGEN ZUR TOPIK DNS-SYNTHETISIERENDER
 HEPATOZYTEN NACH TEILHEPATEKTOMIE

1. Einleitung

Während des physiologischen Ersatzwachstums nach Beendigung der Wachstumsphase (ungefähr ab 230 g Körpergewicht, entsprechend einem Alter der Ratten von 4 Monaten) bleibt der Prozentsatz DNS-synthetisierender Kerne immer gleich (Stöcker et al. 1964). Die DNS-synthetisierenden Zellen sind diffus verteilt und zeigen keine bestimmte Zuordnung zu den Strukturen des Leberläppchens wie Glisson'schem Feld und Zentralvene, d.h. sie zeigen keine bestimmte Topik (Oehlert et al. 1962, Bucher und Swaffield 1964, Fabrikant 1968).

Andere Verhältnisse als in der ruhenden Leber finden sich in der regenerierenden Leber. Bei einer Unterteilung der Leberlobuli nach dem Modell von RAPPAPORT und Mitarbeitern (1954) in einen peripheren = periportalen, intermediären = mittleren und zentralen = (V.centralis) inneren Bereich ließ sich nachweisen, daß die DNS-Synthese 15 - 20 Stunden nach Teilhepatektomie im periportalen Bereich beginnt und daß zum Zeitpunkt maximaler DNS-Synthese 80 - 95 % der TdR³H markierten Kerne im peripheren und intermediären Bereich liegen (Grisham 1962, Bucher und Swaffield 1964, Fabrikant 1968, Tuczek 1970). Sie beginnt also 15 - 20 Stunden nach dem Eingriff peripher und intermediär und greift dann auf die zentralen Zonen über (Rabes et al. 1965b). Im weiteren Verlauf der DNS-Synthese treten die markierten Zellen auch zentral auf (Rabes et al. 1965b), wobei ein enger Bereich um die Zentralvene immer unmarkiert bleibt (Fabrikant 1968; Übersicht bei Grundmann und Seidel 1969). Da die zentralen Läppchenabschnitte wesentlich träger reagieren (Tuczek 1970),

nimmt GRISHAM (1962) an, daß die peripheren und intermediären Bereiche als Reservewachstumszonen dienen und die Zellen aus den äußeren in die mittleren Bereiche wandern. TUCZEK (1970) wies im Gegensatz zu anderen Autoren (Oehlert et al. 1962, Grisham 1962, Fabrikant 1968) nach, daß während des gesamten Zeitraumes der erhöhten DNS-Synthese nach Teilhepatektomie eine charakteristische Topik der DNS-synthetisierenden Zellen vorhanden ist. Die unterschiedliche Verteilung der DNS-synthetisierenden Zellen ist umso ausgeprägter, je größer der Gewebsverlust ist (Grisham 1962, Bucher und Swaffield 1964). Diese topischen Verhältnisse sind nicht nur auf die DNS-Synthese beschränkt, sondern sind auch für den zweiten Anstieg der RNS-Syntheseaktivität kurz vor Beginn der DNS-Synthese (Rabes und Brändle 1968) und für die mitotische Aktivität 6 - 8 Stunden nach der DNS-Synthese nachweisbar (Harkness 1957, Weinbren 1959, Fabrikant 1968, auch Bucher 1963). Auch nach Hypophysektomie und Teilhepatektomie sowie Gabe von Wachstumshormon bei normalen Tieren beginnt die DNS-Synthese in Hepatozyten des periportalen Bereichs (Rabes et al. 1965, Echave Llanos et al. 1971b bei Mäusen).

2. Methode

Die ausgeprägte Erhöhung der DNS-Syntheseaktivität in der regenerierenden Leber adrenaletomierter Tiere könnte möglicherweise auch zu einer Aufhebung dieser Topik führen. Um diese Frage zu klären, wurden die Autoradiogramme von je 5 Tieren der Gruppen 18 und 24 Stunden nach Teilhepatektomie des Adrenaletomie-Versuches (Teil IV) nach topischen Gesichtspunkten abermals ausgewertet. In Anlehnung an die von TUCZEK (1970) angegebene Methode wurde die Strecke Periportalfeld-Zentralvene mit Hilfe eines Okularzählrasters in flächengleiche Quadrate mit einer Kantenlänge von $42.6\text{ }\mu\text{m}$ unterteilt. Ausgewertet wurden jene Lobuli, deren Abstand Zentralvene-Glisson'sches Feld nicht mehr als 11 und weniger als 9 Quadrate betrug. Um gleich lange Lobuli zu erhalten, wurden alle Lobuli auf 10 Raster-einheiten interpoliert. Die Auswertung begann am Rande der vena centralis und endete am Beginn des Portalfeldes. Durch Einteilung des Abstandes in 10 Einheiten wurde es möglich, den TdR^3H -Markierungsindex für jede Einheit getrennt zu bestimmen. Von jedem Präparat wurden 20 Lobuli ausgezählt und ein mittlerer Markierungsindex dieser 20 Lobuli für die 10 Einheiten bestimmt. Für jedes Einzeltier läßt sich daher getrennt ein Markierungsindex für die 10 Abschnitte Zentralvene-Glisson'sches Feld angeben. In Abbildung 6 und 7 wurde der Mittelwert der Markierungsindices von je 5 Tieren in den gleichen Abschnitten dargestellt (Kreise).

18 STUNDEN NACH
HEPATEKTOMIE (60%)

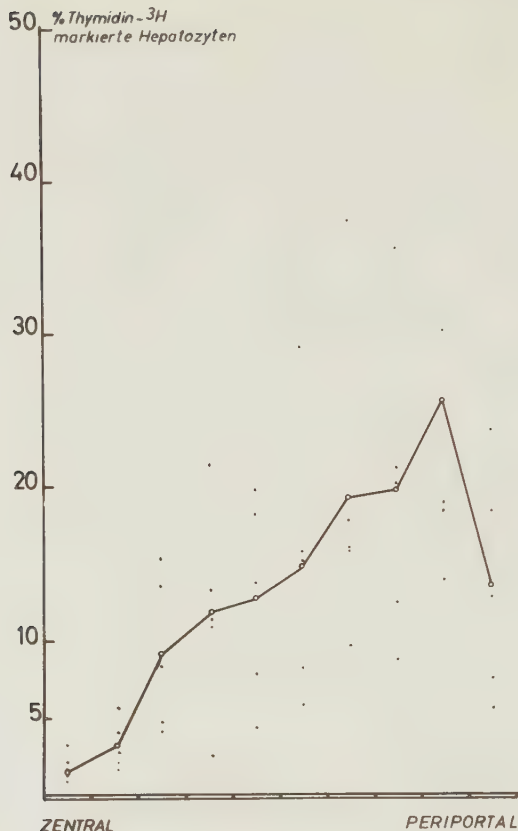


Abbildung 6:

Zonale Verteilung DNS-synthetisierender Hepatozyten in den Leberlobuli adrenaletomierter Ratten 18 und 24 Stunden nach Teilhepatektomie. Auswertung von 3 Lobulusgruppen mit den Abständen Zentralvene-Portalfeld von 9, 10, 11 Okularrastereinheiten entsprechend 10 Einheiten. Die Punkte $\cdot$ repräsentieren die Ergebnisse von jeweils 20 Lobuli eines Tieres, die Kreise zeigen den mittleren Markierungsindex von 100 Lobuli, entsprechend 5 Tieren = % markierte Zellen/Gesamtzellzahl von 100 Lobuli einer Rastereinheit.

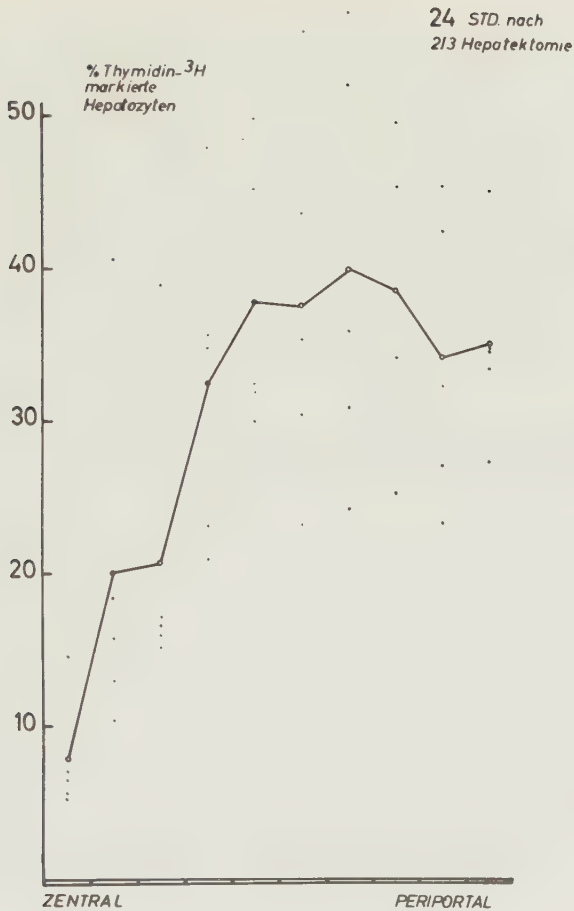


Abbildung 7:

Zonale Verteilung DNS-synthetisierender Hepatocyten in den Leberlobuli adrenaletomierter Ratten 18 und 24 Stunden nach Teilhepatektomie. Auswertung von 3 Lobulusgruppen mit den Abständen Zentralvene-Portalfeld von 9, 10, 11 Okularrastereinheiten entsprechend 10 Einheiten. Die Punkte · repräsentieren die Ergebnisse von jeweils 20 Lobuli eines Tieres, die Kreise zeigen den mittleren Markierungsindex von 100 Lobuli, entsprechend 5 Tieren = % markierte Zellen/Gesamtzellzahl von 100 Lobuli einer Rastereinheit.

3. Ergebnisse und Diskussion

Der TdR^3H -Markierungsindex 18 Stunden nach Teilhepatektomie beträgt bei adrenaletomierten Ratten $14.60 \% \pm 8.89$ (Standardabweichung), 6 Stunden später $37.39 \% \pm 7.74$ (Tabelle 5). Die weitaus überwiegende Anzahl der markierten Kerne liegt zu beiden Zeitpunkten eindeutig peripher und intermediär (Abb. 6, 7). Die Beobachtung von RABES und TUCZEK (1967) und TUCZEK (1970), daß der direkt an das Portalfeld angrenzende Bereich geringer proliferiert als die zentral benachbarten Zonen, kann auch bei dieser Versuchsanordnung bestätigt werden. Besonders deutlich ist dies 18 Stunden nach Teilhepatektomie (Abb. 6). Der Vergleich der Topik 18 und 24 Stunden nach dem Eingriff zeigt, daß 24 Stunden nach Teilhepatektomie die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen deutlich zugenommen hat und der Bereich der maximalen Syntheseaktivität zentralwärts verlagert ist. Auch die peripheren Zellen sind noch weiterhin vermehrt in die S-Phase eingetreten. Die Zunahme der markierten Kerne im mittleren Bereich dürfte eher als Folge des Eintritts neuer Zellen in die Synthesephase aufgefaßt werden, denn als Folge der Wanderung oder Verschiebung peripherer Zellen nach zentral, wie es für spätere Zeitpunkte beschrieben worden ist (Grisham 1962, Tuczec 1970), da die Anzahl der Zellen, die die Mitose zu diesem Zeitpunkt (24 Std. p.op.) bereits vollzogen haben, noch nicht sehr groß sein kann.

Die Mitose folgt der DNS-Synthese um 8 Stunden (Bucher 1967). TUCZEK (1970) führt als mögliche Ursache der charakteristischen Popik proliferierender Zellen nach Teilhepatektomie an: Unterschiede in der submikroskopischen Struktur der Hepatozyten in Abhängigkeit von ihrer intra-

lobulären Lokalisation, Unterschiede in ihrem Enzymbesatz und Unterschiede in der nutritiven Versorgung der Zellen. Er diskutiert eine unspezifische zelluläre Reaktion in der frühen präproliferativen Phase, die weitere proliferationsspezifische Syntheseschritte zur Folge hat (auch Bucher 1963; ausführliche Literatur bei Tuzek 1970). Auch ein starker Proliferationsreiz bei gleichzeitiger Beseitigung der DNS-synthesehemmenden Faktoren führt nicht zu einem Effekt, der die für die Topik verantwortlichen Mechanismen überlagern kann. Die beschriebenen Ergebnisse (Abb. 6 und 7) zeigen, daß die Entstehung der topischen Verhältnisse der DNS-synthetisierenden Hepatozyten in den Leberlobuli abhängig vom Regenerationsreiz, aber unabhängig von den die DNS-Synthese modifizierenden Faktoren ist. Man darf sie wohl daher als charakteristisch für die regenerierende Leber bezeichnen.

Die Unabhängigkeit dieses Phänomens von hormonalen Faktoren, wie die Tatsache der geringen Proliferation in aller-nächster Nähe der portalen Gefäße, die später beobachtete Wanderung der Hepatozyten in das Läppchenzentrum, die Abhängigkeit von der Stärke des Proliferationsreizes und die spezifischen Unterschiede im Enzymbesatz der Zellen sprechen für die Vorstellung, daß die für die Topik verantwortlichen Mechanismen zellulärer Art und nicht Folge unterschiedlicher nutritiver Versorgung sind.

Teil VI DER EINFLUSS DES WACHSTUMSHORMONS (STH AUF
DIE DNS-SYNTHESE IN DER REGENERIERENDEN
LEBER HYPOPHYSEKTOMIERTER RATTEN

1. Einleitung

Nach operativer Ausschaltung der gesamten Hypophyse sinkt die Einbaurate von markiertem Thymidin in hormonabhängigen und parenchymatösen Organen wie Nebennieren (NN), Leber und Niere signifikant ab. Aber auch nach Hypophysektomie ist die Leber zu kompensatorischem Wachstum fähig (Rabes 1969). Der Eintritt der Parenchymzellen in die DNS-Synthesephase (S-Phase des Mitosezyklus) ist verzögert, die maximale Mitoseaktivität ist um 20 Stunden verschoben (Weinbren 1959, Brändle 1966, Rabes und Brändle 1969). Die Ursache für diese Veränderung könnte im Leberstoffwechsel liegen, der nach Hypophysektomie eingeschränkt ist. So ist der Umsatz der Leberphospholipide verlangsamt, der RNS- und Proteinanteil der Leberzelle sinkt bei konstantem DNS-Gehalt des Kernes, die RNS weist eine erniedrigte Phosphorkonzentration auf und der Einbau von Aminosäuren in Proteine ist verringert (Geschwind et al. 1950, 1951, Di Stefano et al. 1952, Korner 1960).

Die Restauration des Lebergewebes nach Teilresektion läuft daher bei hypophysektomierten Ratten langsamer ab als bei Normaltieren und die Gesamtzellzahl sowie das Gewicht des regenerierenden Restes ist etwa um ein Viertel bis ein Drittel geringer als bei Kontrollen (Franseen et al. 1938). Die normale Korrelation zwischen Zytoplasmaveränderungen und DNS-Synthese ist bei hypophysektomierten Ratten aufgehoben; ein RNS-Verlust führt nicht automatisch zu verstärkter DNS-Synthese (Rabes et al. 1965b). Während des Regene-

rationsprozesses wird Thymidin erst 27 - 34 Stunden nach der Teilhepatektomie in die DNS eingebaut, in den zentralen Läppchenbezirken sogar erst nach 56 Stunden (Rabes et al. 1965a, b). Der maximale Wert für die eingebaute Thymidinmenge liegt beträchtlich unter dem Maximalwert der normalen Ratte, während die autoradiographisch bestimmte Zahl der Thymidin inkorporierenden Zellen zu den Zeiten der maximalen DNS-Synthese gleich ist (Brändle 1966, Rabes 1969). Die Proliferationsintensität ist also nach einem um 13 - 15 Stunden verspäteten Beginn gleich groß (Rabes 1967).

Dies kann sowohl durch eine verspätete Induktion zur Wachstumssteigerung bewirkt worden sein, als auch durch eine Verlangsamung der präproliferativen Syntheseprozesse in der Einzelzelle. Die vorliegende Untersuchung soll Aufschluß darüber geben, ob das Wachstumshormon (STH) für die rechtzeitige Induktion der regenerativen Prozesse verantwortlich ist, oder ob die proteinanabole Wirkung dieses Hormons für einen schnellen Beginn der DNS-Synthese notwendig ist.

2. Material und Methode

2.1. Tiere und Operation

22 männliche Wistarratten aus eigener Zucht mit einem Gewicht von 176 - 204 g (Mittelwert 189 ± 7.7 g Standardabweichung) wurden nach der Methode von REISS und Mitarbeiter (1933) in der Modifikation von BRÄNDLE (1966) hypophysektomiert. Als Narkotikum diente eine 3 %-ige Avertin^R (Tri - bromäthanol)-Lösung in einer Dosis von einem Prozent des Körpergewichtes. Die Vollständigkeit der Hypophysektomie wurde nach folgenden Kriterien geprüft:

- a) Makroskopischer Nachweis der 3 Hypophysenanteile intra op.
- b) Gewichtsabnahme nach Hypophysektomie
- c) Atrophie des Testes zum Tötungszeitpunkt. Nach BRÄNDLE (1966) und RABES (1969) ist die Atrophie des Testes ein charakteristisches Kriterium für eine vollständige Hypophysektomie.
- d) Gewichtsanstieg unter Substitution mit STH
- e) Zusätzlich wurde bei einigen Tieren am Ende des Versuches der Schädel eröffnet und makroskopisch das Fehlen der Hypophyse bestätigt.

Nach 4 Wochen, zu Beginn der Hormonsubstitution, betrug das Gewicht der Tiere 165 ± 10.8 g, entsprechend einer mittleren Gewichtsabnahme von 32 Gramm gegenüber dem Ausgangsgewicht. Die Tiere erhielten Altromin^R Standarddiät und Wasser ad. libidum. Sie wurden bei gleichbleibender Temperatur in Einzelkäfigen gehalten. Natürlicher Tag- und Nachtrhythmus. Die Hepatektomie nach HIGGINS und ANDERSON (1931) erfolgte in Abhängigkeit vom Tötungszeitpunkt zu variablen Tageszeiten (siehe oben). Im Gegensatz zu der

hohen Mortalitätsrate der Hypophysektomie (60 - 80 %) war die Operationssterblichkeit bei der Hepatektomie geringer (5 - 10 % in Abhängigkeit von der Operationszeit). Als Narkotikum wurde Äther verwendet.

18, 24, 30, 36 und 42 Stunden nach Teilhepatektomie wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet und die Lebern entnommen. Die Herstellung und Auswertung der Autoradiogramme geschah nach der oben beschriebenen Methode.

2.2. Die Substitution des STH

Das somatotrope oder Wachstumshormon (STH, GH) wird in den acidophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens (HVL) gebildet. Es ist ein Proteohormon, das beim Menschen aus 188 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von 21.500 besteht, auch nach proteolytischer Spaltung in 12 Untereinheiten noch wirksam ist und keinerlei Einfluß auf endokrine Organe hat (Illig und Mitarbeiter 1969, Ganong 1971). Neben dem spezifischen Wirkungszentrum scheinen die übrigen Aminosäuren für die hohe Artspezifität des Hormons verantwortlich zu sein. Der Hormonspiegel im Serum ist bei adulten Ratten geschlechtsabhängig (Korner 1968). Der Gehalt der Hypophyse an Rattenwachstumshormon ist bei adulten männlichen Ratten höher als bei weiblichen Tieren (Birge et al. 1967). Für den Nachweis und die Bestimmung des Hormongehaltes werden biologische (Breitenzunahme des Tibiacipophysenknorpels bei hypophysektomierten Ratten), serologische (Bestimmung des 'sulfation factors', dessen Menge in direkter Korrelation zur Menge des vorhandenen aktiven STH steht) und immunologische bzw. radioimmunologische Methoden angewandt (Greenwood 1967; Übersicht bei Scriba und Schwarz 1970).

Die Halbwertszeit für exogen zugeführtes STH beträgt beim Menschen ca. 20 - 30 Minuten (Glick et al. 1965, Illig et al. 1969). Nach EVANS (1938) ist eine Einheit des Hormons diejenige Menge, die, für 10 Tage täglich gegeben, bei mindestens 5 hypophysektomierten Ratten einen Gewichtsanstieg von 10 g bewirkt (s.a. Glick et al. 1965).

Die Ratten erhielten, beginnend 4 Wochen nach Hypophysektomie, täglich 2 Einheiten gereinigtes STH vom Schwein, Somacton^R (Ferring). PFEIFFER und MELANI (1968) wiesen nach, daß Schweine-STH bei Ratten wirksam ist (s.a. Gagnong 1971). Für die Wirksamkeit des Präparates spricht weiterhin der sofort zu beobachtende Gewichtsanstieg der Tiere unter der Behandlung. Die Substitution wurde 6 Tage lang durchgeführt, die Injektionen wurden so gelegt, daß die Tötung der Tiere nicht später als 24 Stunden nach der letzten Injektion durchgeführt werden konnte.

3. Ergebnisse

Als eines der Kriterien für die Vollständigkeit einer Hypophysektomie kann die Atrophie des Hodens gelten. Bei einem Kollektiv von 57 Tieren fand RABES (1969) einen Abfall des Feuchtgewichtes von einem Hoden auf 0.27 ± 0.06 g gegenüber Kontrolltieren mit einem mittleren Hodenfeuchtgewicht von 1.44 ± 0.23 g. Das Feuchtgewicht beider Hoden der in diesem Versuch verwerteten Tiere ($n = 22$) betrug 35 - 37 Tage nach der Hypophysektomie 0.45 ± 0.09 g und liegt somit im Bereich der von RABES (1969) gefundenen Werte. Dieser Gewichtsverlust der Hoden kann gleichzeitig als Hinweis dafür dienen, daß das verwendete Hormonpräparat weitgehend frei von gonadotropen Hormonen ist.

In den 30 Tagen nach der Hypophysektomie bis zum Beginn der Hormonsubstitution betrug der mittlere Körpergewichtsverlust von 22 Tieren etwa 34 Gramm. Zu Versuchsbeginn hatten die Tiere ein mittleres Gewicht von 189 ± 7.7 g, das sich auf 155 ± 10.8 g erniedrigte und nach Hormonsubstitution auf 168 ± 11.9 g, entsprechend einer mittleren Gewichts Zunahme von 12 g erhöhte. Abbildung 8 zeigt die graphische Darstellung der Gewichtsverläufe von 3 Tieren jeweils verschiedener Versuchsgruppen (Tötung 18, 24, 30 Stunden nach Teilhepatektomie) vom Versuchsbeginn bis zur Tötung. Sofort nach der ersten Hormongabe zeigt sich eine deutliche Gewichtszunahme innerhalb der nächsten 24 Stunden. Weitere Gaben führen zu einem entsprechenden Gewichtsanstieg und im Versuchszeitraum von 6 Tagen ist kein Wirkungsverlust des Hormons zu beobachten. Das Tier C (Abbildung 8) erhielt die letzte STH-Injektion 24 Stunden vor der Tötung, 6 Stunden nach der Teilhepatektomie. Es wird deutlich, daß der sonst eingetretene, wahrscheinlich durch die Operation

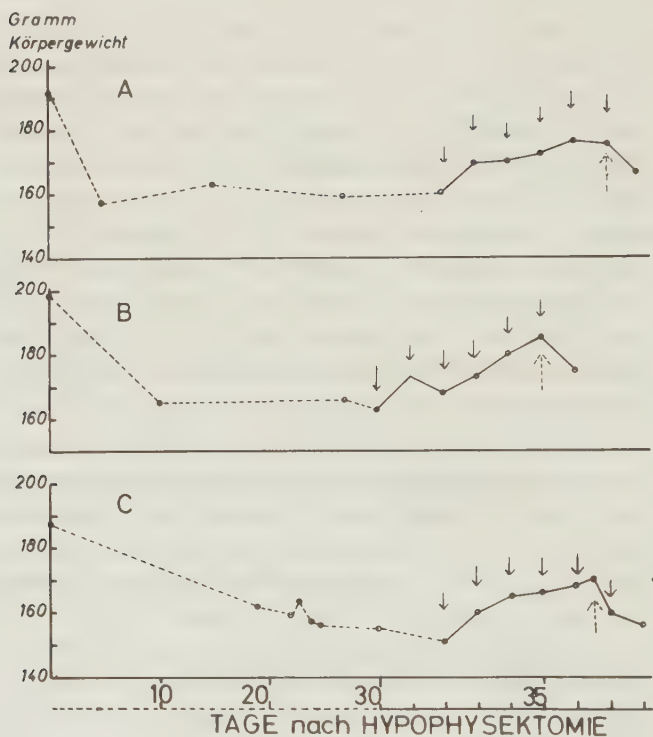


Abbildung 8:

Darstellung der Gewichtsverläufe von drei hypophysektomierten Tieren nach dem Eingriff (gestrichelte Linie). STH Substitution (ausgezogene Pfeile) und Gewichtszunahme (ausgezogene Linie) bis zur Hepatektomie (gestrichelter Pfeil). Gewichtsabnahme bis zum Todeszeitpunkt. Ordinate: Körpergewicht in Gramm. Abszisse: Tage nach Hypophysektomie.

Tier A wurde 18 Stunden, Tier B 24 Stunden und Tier C 30 Stunden nach der Teilhepatektomie getötet.

bedingte Gewichtsverlust durch diese Hormongabe geringfügig aufgehalten werden kann. Diese Befunde sprechen für die eindeutig anabole Wirkung des Hormons und weisen darauf hin, daß die bei hypophysektomierten Tieren beobachtete Gewichtsabnahme durchaus durch das Fehlen des STH bedingt sein könnte. Weiterhin ergibt sich, daß die im Versuch gewählte Hormondosis ausreichend war und die Gewichtszunahme sowohl als indirektes Zeichen für die Vollständigkeit der Hypophysektomie wie auch für die Wirksamkeit des Schweine-STH auf das Wachstum von Ratten gelten kann.

Der Verlauf der DNS-Syntheseaktivitätszunahme nach Teilhepatektomie zeigen Abbildung 9 und Tabelle 8. Abbildung 9 zeigt die mittleren Markierungsindices der einzelnen Gruppen in Abhängigkeit von der Zeit nach Teilhepatektomie, während Tabelle 8 die TdR³H-Markierungsindices der einzelnen Tiere innerhalb der Gruppe zu den verschiedenen Zeitpunkten wiedergibt.

Der Verlauf der DNS-Synthese ist gegenüber den Kontrolltieren, Hungertieren, orchidektomierten und adrenalectomierten Tieren deutlich verschieden. Der Beginn der DNS-Synthese liegt bei ungefähr 18 Stunden nach der Operation und ist damit gegenüber dem Beginn bei Hungertieren kaum, gegenüber dem Synthesebeginn bei den orchidektomierten und Kontrolltieren geringfügig und den adrenalectomierten Tieren deutlich verspätet. Die Unterschiede im Ablauf der DNS-Synthese liegen im Wesentlichen bei späteren Zeitpunkten. Normalerweise, so zeigen es auch die Kontrolltiere und adrenalectomierten Tiere, liegt das DNS-Synthesemaximum 20 - 24 Stunden nach Teilhepatektomie (siehe Einleitung; Übersicht bei Grundmann und Seidel 1969). Bei den hypophysektomierten, mit STH substituierten Tieren ist zu diesem Zeitpunkt jedoch

STH VERSUCH

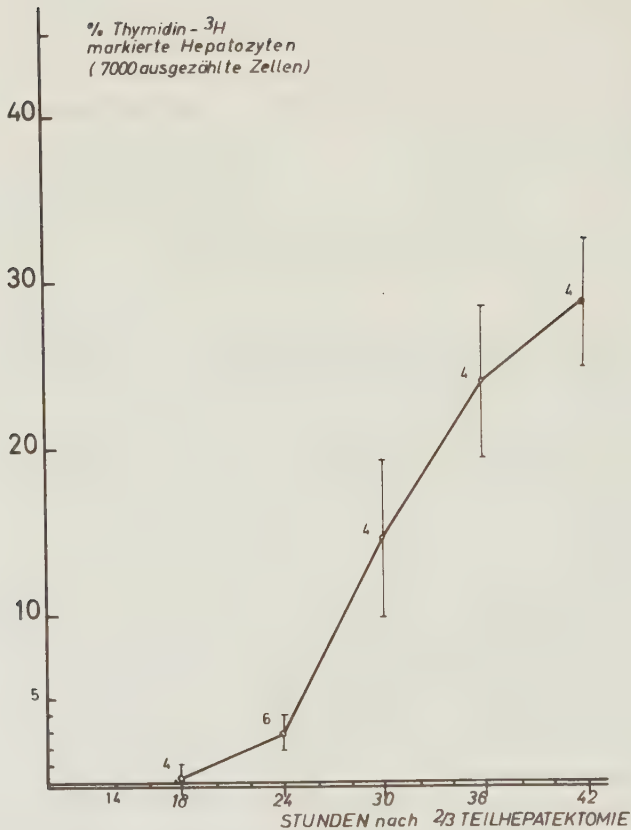


Abbildung 9:

DNS-Synthese in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Ratten mit STH Substitution in Abhängigkeit von der Zeit nach Teilhepatektomie. Prozent der Thymidin - ^3H -markierten Zellen (7000 ausgezählte Hepatozyten pro Versuchstier). Mittelwert ($\bar{x}$) einer Gruppe, Anzahl der Tiere an den Kurvenpunkten. Vertikale Linien: Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 8:

TdR³H-Markierungsindices mit Standardabweichung mit mittlerem Fehler vom Mittelwert bei hypophysektomierten, STH substituierten Ratten

n = Anzahl der Tiere

$\bar{x}$ = Mittelwert des Markierungsindex der Tiere einer Gruppe

sx = Standardabweichung

$s\bar{x}$ = Mittlerer Fehler des Mittelwertes

Zeit n. TH	18	24	30	36	42
n	4	6	4	4	4
%	0.83 %	7.51 %	18.80 %	26.05 %	39.82 %
markierte	0.14	3.54	23.71	34.02	24.09
Hepato-	0.20	3.48	13.90	23.21	27.84
zyten	0.02	0.08	1.61	12.12	22.65
		1.69			
		1.18			
$\bar{x}$	0.29 %	2.91 %	14.50 %	23.85 %	28.60 %
sx	± 0.36	± 2.62	± 9.49	± 9.05	± 7.79
$s\bar{x}$	± 0.17	± 1.07	± 4.74	± 4.52	± 3.89

Signifikanz gegen die Kontrollgruppe

18 Stunden : p ≤ 0.01

24 " : p ≤ 0.0005

30 " : p ≥ 0.15

36 " : p ≤ 0.0025

nur eine geringe DNS-Synthese nachweisbar, nur knapp 3 % der Hepatozyten befinden sich in der S-Phase. Abbildung 11 zeigt deutlich, daß unter keiner der anderen hier besprochenen Versuchsbedingung diese geringe Anzahl markierter Hepatozyten zu diesem Zeitpunkt zu finden ist. Innerhalb der nächsten 6 Stunden steigt aber die DNS-Synthese steil an und ist 30 Stunden nach dem Eingriff deutlich erhöht. Der Anstieg der Anzahl DNS-synthetisierender Zellen nimmt weiterhin zu und ist nach 36 Stunden mit 23 % markierten Hepatozyten ebenso hoch wie bei den Kontrolltieren 24 Stunden nach Hepatektomie. Der Zeitpunkt der maximalen Syntheseaktivität liegt aber hier bei 42 Stunden nach dem Eingriff, d.h. ist gegenüber den Kontrollen um 18 Stunden verspätet. Die Anzahl der Zellen, die sich zum Zeitpunkt maximaler DNS-Synthese in der S-Phase befinden, ist deutlich höher als bei den Kontrolltieren, den Hungertieren und den kastrierten Tieren. Ähnlich hohe Werte konnten nur bei den adrenaletomierten Tieren gefunden werden. Da in diesem Versuch die DNS-Synthese nach Teilhepatektomie nicht auch noch zu späteren Zeitpunkten untersucht wurde, kann nicht gesagt werden, ob die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen weiterhin zunimmt oder ob sie geringer wird. Mit 28.6 % TdR³H markierten Hepatozyten ist im Untersuchungszeitraum nach 42 Stunden die DNS-Synthese maximal.

Der Anstieg zu dieser maximalen DNS-Synthese geschieht bei den hypophysektomierten, STH substituierten Tieren wesentlich langsamer als bei den Kontrolltieren und in den anderen Versuchen. BUCHER und Mitarbeiter (1964), RABES und BRÄNDLE (1969), FABRIKANT (1968) u.a. fanden bei Normaltieren nach dem Einsetzen der DNS-Synthese einen schnellen Anstieg zu maximalen Werten. Dieser schnelle Anstieg wurde

bei den Kontrolltieren und den adrenalectomierten Tieren ebenfalls gefunden. Bei den Hungertieren dagegen ist der Zeitraum vom Beginn der DNS-Synthese bis zum Erreichen des Synthesemaximums verlängert, ist aber dennoch deutlich kürzer als bei den hypophysektomierten STH substituierten Tieren.

Den Verlauf der DNS-Syntheseaktivität nach Teilhepatektomie an hypophysektomierten Ratten wurde ausführlich von BRÄNDLE (1966), RABES (1969) und RABES und BRÄNDLE (1969) untersucht. Abbildung 10 ist der Arbeit von RABES und BRÄNDLE (1969) entnommen und zeigt den autoradiographisch bestimmten DNS-Syntheseverlauf bei normalen und hypophysektomierten Tieren.

Der DNS-Synthesebeginn liegt bei nicht STH substituierten hypophysektomierten Tieren bei 27 Stunden nach Teilhepatektomie, damit etwa 12 Stunden später als bei Normaltieren und 9 Stunden später als bei den STH substituierten Tieren. Nach dem Beginn der DNS-Synthese nimmt die Anzahl der synthetisierenden Zellen, ebenso wie bei den Normaltieren, schnell zu und erreicht 40 Stunden nach der Teilhepatektomie den Maximalwert. Etwa zu diesem Zeitpunkt ist auch bei den STH substituierten Tieren die maximale DNS-Synthese zu beobachten, bei einer um etwa 9 Stunden eher einsetzenden DNS-Synthese - offenbar die Folge des langsameren Anstiegs der Zahl DNS-synthetisierender Hepatozyten. RABES (1969) gibt den TdR^3H -Markierungsindex zum maximalen Synthesezeitpunkt bei den hypophysektomierten Ratten mit $21.4 \% \pm 7.55$ (mittlerer Fehler) an. Seine Kontrolltiere mit dem DNS-Synthesemaximum zum 20 - 27 Stunden Zeitpunkt zeigen einen TdR^3H -Markierungsindex von $22.7 \% \pm 4.34$ (mittlerer Fehler). Er fand also in der Höhe des Markierungsindex keinen Unterschied zwischen normalen und hypophysektomierten Ratten. Im Gegensatz dazu stehen die Befun-

Prozent Thymidin-H-3-markierte Leberparenchymzellen

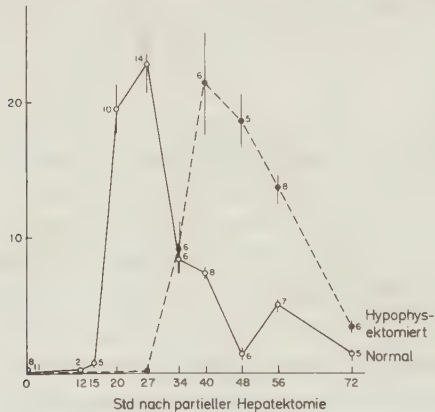


Abbildung 10:

DNS-Synthese nach Teilhepatektomie an normalen und hypophysektomierten Ratten.

Darstellung des TdR^3H -Markierungsindex in Abhängigkeit von der Zeit nach Teilhepatektomie.

Mittelwerte der Gruppen, Anzahl der Tiere und mittlerer Fehler vom Mittelwert (vertikale Linien).

Aus: RABES und BRÄNDLE (1969)

de dieses Versuches, wo sich zum Zeitpunkt maximaler Syntheseaktivität $28.6 \% \pm 3.89$ (mittlerer Fehler) TdR^3H markierte Zellen nachweisen lassen. Der bei den nicht hormonsubstituierten hypophysektomierten Tieren maximale TdR^3H -Index ist bei den STH substituierten Tieren submaximal und findet sich bereits 6 - 7 Stunden früher, nämlich 35 - 36 Stunden nach der Teilhepatektomie. Auch gegenüber den Kontrolltieren dieser Versuche, wie den Normaltieren von RABES (1969) ist der TdR^3H -Markierungsindex zu den Zeitpunkten der maximalen DNS-Synthese erhöht.

STH Substitution bewirkt auf die DNS-Synthese in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Ratten gegenüber nicht behandelten substituierten Tieren u.a. einen um etwa 9 Stunden früheren Beginn der DNS-Synthese, eine langsamere Zunahme der Anzahl DNS-synthetisierender Zellen und eine Steigerung der Anzahl der Hepatozyten, die sich zum Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese in der S-Phase befinden. Über die Veränderungen in der DNS-Synthese über den Zeitraum von 42 Stunden nach Teilhepatektomie hinaus können keine Aussagen gemacht werden.

4. Allgemeine Diskussion

4.1. Einfluß der STH auf die Leberzelle

Hypophysektomie führt zu einem Abfall des Plasma-STH-Spiegels auf nicht mehr nachweisbare Mengen (Schalch und Reichlich 1966). Daraus resultiert allgemein eine Verminderung der Protein- und RNS-Synthese und des Wachstums in vielen Geweben einschließlich der Leber (Simpson et al. 1949). Die Anzahl der Mikrosomen und Polysomen der Hepatozyten wird geringer und sie verlieren teilweise ihre Fähigkeit, Polypeptidketten zu bilden. Der RNS-Gehalt der Zellen vermindert sich (morphologisches Äquivalent ist der Verlust der scholligen Basophilie, Rabes et al. 1965), das Gesamtprotein pro Zellen, die Zellvolumina und die Größe des intrazellulären Aminosäurenpools nehmen ab. Eine Substitutionstherapie ist in der Lage, diese Veränderungen aufzuheben, der RNS-Gehalt pro Zelle steigt sogar über Normalwerte an (Di Stefano et al. 1952, 1955, Di Stefano und Diermeier 1959, Korner 1960a, 1960b, 1964).

Als Parameter des Zellalters kann das Ploidiemuster der Leberzelle gelten, der Alterungsprozeß kann als 'ploidie shift', d.h. Entwicklung zu höheren Ploidiestufen in der Einzelzelle, dargestellt werden (Di Stefano und Diermeier 1959; Übersicht bei Grundmann und Seidel 1969). Durch eine Hypophysektomie ist die Entwicklung zu höheren Ploidiestufen aufzuheben, es bleibt daher ein Ploidiemuster der Leberzellen erhalten, wie es zum Zeitpunkt der Operation bestand. Die Ploidiestufe ist ebenso wie die mitotische Aktivität auf diesem Zeitpunkt 'eingefroren'. Durch Substitution mit STH (und auch Schilddrüsenhormon, Carriere 1962) bei gleichzeitiger ausreichender Nahrungszufuhr erlangen die Zellen die Fähigkeit zurück, solche Ploidiestufen zu erreichen, wie es für ihr tatsächliches physiologisches Alter typisch ist (Di Stefano und Diermeier 1959).

Diese Erhöhung des Verhältnisses höherploidier Zellen zu diploiden Zellen geht kurzfristig mit einer Nettozunahme von DNS einher, woraus aber kein direkt DNS-stimulierender Effekt der Hormone abgelesen werden kann (Di Stefano et al. 1955).

STH kann ohne ausreichende Nahrungszufuhr keine Veränderung der Ploidiestufen erreichen, was als Hinweis für die vielfältigen Abhängigkeiten der STH-Wirkung von Ernährungszustand, Nahrungszufuhr und Nahrungsbestandteilen gelten kann.

Bei hungernden Tieren ist z.B. der Einbau von Thymidin in das Fettgewebe der Ratte vermindert, nach STH Gabe ist dieser Abfall der Einbaurrate geringer oder sogar aufgehoben (Murakawa und Raben 1968). Analog dazu steht die Beobachtung, daß hypophysektomierte, also unterernährte Ratten zum Zeitpunkt maximaler DNS-Synthese weniger Thymidin in DNS einbauen, als normale Tiere (Brändle 1966, Rabes 1969). Ursache dafür könnte der STH Mangel sein. Hunger führt ebenfalls zu einem deutlich meßbaren Abfall der STH-Konzentration im Hypophysenvorderlappen (HVL) und der Gehalt an STH-releasing factor (RF) ist deutlich erniedrigt (Friedman und Reichlin 1965, Dickermann et al. 1969, Trenkle 1970). Entsprechend ist bei Hunger auch die Plasma-Konzentration bzw. Plasma-Aktivität des Hormons vermindert (Dickerman et al. 1969, Trenkle 1970). GLICK und Mitarbeiter (1965) berichten, daß andererseits kurze Hunger- bzw. Fastenperioden zu einer Anhebung des STH-Serumspiegels führen (auch Pfeiffer und Melani 1968, Trenkle 1970). Für diese hungerbedingten Veränderungen im STH-Gehalt von Hypophyse und Serum scheinen in erster Linie die Proteine verantwortlich zu sein, da die gleichen Veränderungen auch bei proteinfreier Ernährung beobachtet wurden (Srebnik et al. 1959). Morphologisch fanden SREBNIK und Mitarbeiter (1959) eine Abnahme in Größe und Zahl der acidophilen Zellen des HVL. Ihre Vermutung ist, daß eine genügende Verfügbarkeit von Proteinen sowohl für die Synthese

des STH selbst als auch für seine Wirksamkeit notwendig ist. Die geringe STH-Konzentration in HVL und Serum von Hungertieren kann also Folge eines nicht ausreichenden Aminosäurenangebotes sein (Clemens und Korner 1970) oder Folge des Mangels an energiereichen Verbindungen, der zu verringerter STH-Synthese führt oder für seinen Wirkungsverlust verantwortlich ist (Trenkle 1970). Wenn also nur bei ausreichenden nutritiven Bedingungen STH gebildet und wirksam werden kann, so ist andererseits eine optimale Nahrungsverwertung an das Vorhandensein von STH geknüpft, wie sich aus der rapiden Gewichtszunahme der hypophysektomierten Tiere nach STH-Substitution ablesen läßt. Trotz optimaler Ernährung verlieren die hypophysektomierten Tiere laufend an Gewicht, erst STH Gaben können diesen Gewichtsverlust aufhalten und das Gewicht restituieren.

Von den Nahrungsbestandteilen scheinen die Aminosäuren für den STH-Serumspiegel die entscheidende Bedeutung zu haben. So stimulieren bestimmte Aminosäuren die STH Sekretion des HVL, eine Kenntnis, die mit dem Argininprovokationstest (Pfeiffer und Melani 1968) klinisch ausgenutzt wird. FAUSTO (1971) glaubt, daß bestimmte Stoffwechselfunktionen der Aminosäuren (z.B. des Histidins) überhaupt nur durch eine vermehrte Freisetzung von STH ausgeübt werden können. Die exakte Regulation des STH-Serumspiegels ist allerdings noch unklar. So haben starke körperliche und seelische Belastungen (Glick et al. 1965), Gabe von Insulin und Hypoglykämien (Glick et al. 1965, Pfeiffer und Melani 1968, Illig et al. 1969) und der Testosteronspiegel (Burek und Frohman 1970, Birge et al. 1971) Einfluß auf die STH Sekretion. Aus der Feststellung, daß nach operativen Eingriffen, wie der Teilhepatektomie, die acidophilen Zellen des HVL Zeichen vermehrter Aktivität boten, schlossen ECHAVE LLANOS und Mit-

arbeiter (1971a, 1971b), daß auch der STH-Spiegel in Hypophyse und Serum erhöht sein müsse. Sie messen daher dem STH für die regenerativen Prozesse nach Teilhepatektomie eine gewisse Bedeutung zu.

STH Gabe bei gesunden Tieren führt zu einem sofortigen Abfall des Aminosäuregehaltes im Blut (Russel 1955). Diese Abnahme des Blutaminosäuren-pools scheint ihre Ursache in der unter STH vermehrten Proteinbiosynthese zu haben (Clemens und Korner 1970, Korner 1960a). STH stimuliert die Proteinsynthese in vivo überall und in jedem Gewebe. Sowohl bei normalen, wie auch bei hypophysektomierten Tieren entsteht ein Nettoanstieg des Einbaus von Aminosäuren in Leberprotein (Korner 1960a, 1968), in Rippenknorpel, epididymales Fettgewebe (Murakawa und Raben 1968) Muskelprotein (Kostyo 1964) usw.. Die Verminderung der Proteinbiosynthese nach Hypophysektomie ist also durch Gabe von STH und ausreichender Proteinzufuhr aufzuheben. Zu den Proteinen, die nach STH Gabe vermehrt gebildet werden, gehören auch für die DNS-Synthese wichtige Enzyme wie die Thymidylat-Kinase (in der Milz: Fast et al. 1970; in der Leber: Akamatsu et al. 1971), der Ornithin-Decarboxylase (Russel und Snyder 1969) und der RNS-Polymerasen (Widnell und Tata 1966, Akamatsu et al 1971). Die Steigerung der Enzymaktivität ist aber sicherlich nur als ein Teil der allgemein erhöhten Proteinbiosynthese aufzufassen und kein spezifischer STH-Effekt (Russel et al. 1970).

4.2. Einfluß des STH auf die RNS

Hypophysektomie führt zu einem Abfall des Verhältnisses RNS/DNS in der Leberzelle und verhindert den Einbau von Orotsäure in alle RNS-Typen (Korner 1964). Dies ist ein Effekt des Ausfalls von STH, denn nach Substitution steigt

das Verhältnis RNS/DNS an, ^{32}P und Orotsäure wird vermehrt in die RNS eingebaut. TALWAR und Mitarbeiter (1964) werfen dabei die Frage auf, ob alle RNS Typen gleichermaßen stimuliert werden, ob eine selektive Stimulierung stattfindet, der Umsatz bereits bestehender Fraktionen modifiziert oder neue Typen synthetisiert werden. Aus den Untersuchungen verschiedener Autoren (Korner 1964, Talwar und Mitarbeiter 1964, Akamatsu et al. 1971, Oravec und Korner 1971) geht hervor, daß nicht alle RNS-Typen zum gleichen Zeitpunkt vermehrt synthetisiert werden, jedoch scheint STH den Einbau von Orotsäure in alle RNS-Typen zu stimulieren (Korner 1964, Ip und Brossard 1971) bei einer zeitlich verschobenen maximalen Inkorporationsrate für jede RNS.

4.3. Einfluß des STH auf die DNS

Bei der gesunden Maus stimuliert STH-Gabe die DNS-Synthese in der Leber, besonders in den periportalen Zonen (Echave Llanos et al. 1971b). Die DNS-Synthese in der Rattenmilz ist ebenfalls erhöht (Fast et al. 1970). MOOLTEN und Mitarbeiter (1970) dagegen konnten auf die DNS-Synthese der ruhenden Leber keinen Einfluß nachweisen, jedoch nach STH Gabe bei nachfolgender Teilhepatektomie begann die DNS-Synthese eher und zeigt nach 24 Stunden höhere Werte als bei Kontrolltieren (Cater et al. 1957). Ebenso wie die DNS-Synthese ist unter diesen Bedingungen auch die Zahl der Mitosen erhöht, sie setzen eher ein und dauern länger (Cater et al. 1957). Auch bei anderen Regenerationsreizen, wie Vergiftung mit CCl_4 , kann eine nachfolgende STH-Gabe die Zahl der Mitosen steigern (Post et al. 1957).

Der entscheidende Reiz zur DNS-Synthese geht dabei sicherlich nicht von der einfachen STH-Gabe aus, sondern ist im

Wesentlichen abhängig von der Teilhepatektomie bzw. CCl_4 Vergiftung. Für diese Annahme spricht auch die Beobachtung von BRÄNDLE (1966) und RABES und BRÄNDLE (1969), daß die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen zum Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese bei hypophysektomierten und normalen Tieren gleich ist (s.o. Abbildung 10). Der Wegfall des STH beeinflußt nicht die Anzahl DNS-synthetisierender Zellen. Für eine geringe direkte Wirkung des STH auf die DNS-Synthese spricht auch das Ergebnis des Hungerversuches (Teil II). Da Hunger einen Abfall des STH-Serumspiegels bewirkt (Dickerman et al. 1969, Trenkle 1970, s.o.), könnte man annehmen, daß der Verlauf der DNS-Synthesekurve nach Teilhepatektomie bei Hungertieren in gewissen Teilen eine Ähnlichkeit zur DNS-Synthesekurve bei hypophysektomierten Tieren aufweist. Dies ist jedoch nicht der Fall. Die typischen Veränderungen der beiden DNS-Syntheseverläufe gegenüber den Kontrollen, können daher schwerlich nur auf das Fehlen bzw. den niedrigen Serumspiegel des STH zurückgeführt werden.

Nach HEMINGWAY und CATER (1958) soll bei hypophysektomierten Ratten nur die gemeinsame Gabe von STH und Cortison zu einer Erhöhung der Mitosehäufigkeit führen können. Der katabole Effekt des Cortisons in anderen Geweben soll dabei die Bereitstellung von Aminosäuren fördern, deren Verwertbarkeit in der Leber durch STH gesteigert wird. HEMINGWAY (1960) ist daher im Gegensatz zu CATER und Mitarbeiter (1957) und MOOLTEN und Mitarbeiter (1970) der Ansicht, daß STH allein, auch nach Teilhepatektomie, nicht zu einem Anstieg der Mitosezahl bzw. der DNS-Synthese führen kann. Das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung zeigt aber deutlich, daß bei hypophysektomierten Ratten die DNS-Synthese nach Teilhepatektomie durch die alleinige Gabe von STH gesteigert werden kann. KORNER (1965) hält die Wirkung des STH

auf die DNS-Synthese in der regenerierenden Leber normaler Ratten für einen sekundären Effekt der stimulierenden Wirkung von STH auf die RNS und Proteinsynthese. Auch die hier beschriebenen Versuche bieten keinen Anhalt für eine direkte Beeinflussung der DNS-Synthese durch STH, vielmehr scheint die Veränderung des Zellmetabolismus durch STH im Vordergrund seiner Wirksamkeit zu stehen.

4.4. Vorstellungen zum STH Wirkungsmechanismus

Die Frage von CATER und Mitarbeiter (1957), ob die Wirkung des STH auf die oben beschriebenen Veränderungen direkt geschieht, ob das Hormon nur in Verbindung mit anderen Hormonen (etwa Insulin, Glucocorticoide usw., Korner 1965, Hemingway und Cater 1958) wirksam werden kann oder die Vermittlung anderer Substanzen benötigt, einen 'second messenger', wie etwa Insulin oder Trijodthyronin das zyklische Adenosinmonophosphat (Übersicht siehe bei Förster 1971), ist bisher noch nicht geklärt. Einige Vorstellungen zur Wirkungsweise des STH sollen jedoch kurz ausgeführt werden.

Der deutliche Effekt auf zellulärer Ebene sowohl in vivo als auch in zellfreien in vitro Systemen ist die Stimulierung des Einbaus von Aminosäuren in Proteine - eine Steigerung der Proteinbiosynthese durch Ribo-, Poly- und Mikrosomen nach STH Gabe (Russel 1955, Korner 1968). Daher wurde die Ansicht geäußert, daß STH auf den Aminosäurentransport Einfluß hat, entweder an der Zellmembran, wo der Transport neutraler und basischer Aminosäuren in Abhängigkeit von der Na^+ Konzentration stimuliert wird (Di Stefano und Diermeier 1959, Kostyo 1964; Ganong 1971) oder intrazellulär (Noall et al. 1957). Die Größe des intrazellu-

lären Aminosäuren-pools soll dann die RNS und DNS-Synthese regulieren. Diese Vorstellung zum STH Wirkungsmechanismus ist sicherlich unzureichend, da sie keine Erklärung dafür bietet, warum z.B. bei in vitro Versuchen der Einbau markierter Aminosäuren in die Proteine von Leberscheibchen (Clemens und Korner 1970) oder an isolierten Kernen den Einbau von Ortosäure in RNS (Oravec und Korner 1971) stimuliert usw. (s.a. Korner 1968). KOSTYO (1964 konnte darüber hinaus nachweisen, daß sich am isolierten Zwerchfellmuskel durch STH-Gabe die Aminosäuren-Inkorporation in Protein stimulieren läßt, auch wenn der Aminosäuren-transport durch die Zellmembran blockiert wird. Er postuliert daher einen durch STH zu stimulierenden Rezeptor, oder verschiedene Rezeptoren, welche Einfluß auf diejenigen Zellmechanismen haben, die sowohl den Aminosäuren-transport als auch die Aminosäurenverwertung regulieren oder kontrollieren.

KORNER (1964) hält es für möglich, daß primär die DNS-abhängige-RNS (mRNS)-Polymerase gebildet wird und daß durch vermehrte mRNS Bildung alle weiteren stimulierten Prozesse erklärbar sind. Nun gibt es aber keinen Hinweis darauf, daß STH spezifische Enzyme selektiv stimuliert und daß eine bestimmte RNS-Fraktion nach Hormongabe signifikant mehr Orotsäure einbaut als die übrigen. Gewichtig ist aber der Befund von CLEMENS und KORNER (1970), daß die Steigerung der Proteinbiosynthese nach STH Gabe auch dann eintritt, wenn die RNS-Synthese durch Actinomycin D gehemmt wird, hingegen keine Steigerung auftritt, wenn die Proteinbiosynthese durch Cycloheximid unterdrückt wird. Daraus ergibt sich, daß die Steigerung der Proteinbiosynthese durch STH unabhängig von der Neubildung von RNS ist. Die Ebene, auf der das STH eingreift, muß daher

die Ebene der Translation sein (Clemens und Korner 1970). In diesem Zusammenhang ist wichtig zu wissen, daß STH die Polyribosomenmenge durch Neubildung von Polyribosomenkomplexen aus freien Ribosomen erhöht (Korner 1964), ein Vorgang, der für eine vermehrte Proteinsynthese günstig ist.

Aus diesen Befunden ergibt sich, daß die Wirkung des STH sowohl auf den Aminosäuretransport, die Effektivitätserhöhung der Ribosomen und der Bildung von Polysomen primär, Veränderungen wie RNS-Polymerasesteigerung, Bildung ribosomaler Proteine, RNS usw. sekundärer Natur sein könnten. Daher ist es einleuchtend, daß STH seine Wirkungen nur bei einer ausreichenden nutritiven Versorgung entfalten kann, wie umgekehrt eine optimale Aminosäurenverwertung mit STH erreicht werden kann.

Der direkte Ansatzpunkt des Hormons auf der molekularen Ebene ist aber weiterhin unbekannt. KOSTYO und RILLEMA (1971) vermuten, daß die katalytische Aktivität der Peptidyl-Transferase (die Peptidyltransferase ist für die Peptidbindung zwischen der wachsenden Peptidkette und der an tRNS gebundenen Aminosäure wesentlich) erhöht wird, während AKAMATSU und Mitarbeiter (1971) und RUSSEL und SNYDER (1969) den Angriffspunkt an der Aktivität der Ornithin-decarboxylase (die Ornithin - decarboxylase ist das Schlüsselenzym der Polyaminbiosynthese und den Polyaminen wird eine RNS-stabilisierende Funktion zugeschrieben) für möglich halten.

4.5. Diskussion der Ergebnisse

Der DNS-Synthese Verlauf in der regenerierenden Leber hypophysektomierter Ratten, die mit STH substituiert wurden, zeigen deutliche Unterschiede zur DNS-Synthese bei gleichen

Tieren ohne Hormonsubstitution. Die DNS-Synthese beginnt eher, fast noch zum normalen Zeitpunkt nach der Teilhepatektomie, verläuft dann langsam zunehmend; ab 24 - 27 Stunden nach dem Eingriff nimmt die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen schnell zu und erreicht nach 42 Stunden maximale Werte, zu einem Zeitpunkt, zu dem auch die nicht substituierten Tiere maximale DNS-Synthese Werte aufweisen (Brändle 1966, Rabes 1969, Rabes und Brändle 1969). Bei den letzteren Tieren ist bis 27 Stunden nach der Teilhepatektomie keine nennenswerte DNS-Synthese nachzuweisen, die Anzahl synthetisierender Zellen nimmt aber danach sehr schnell zu. Die DNS-Synthese setzt also wesentlich mehr synchron ein, als bei den STH substituierten Tieren.

Aus den allgemeinen Überlegungen zur Wirkung des Wachstumshormon geht hervor, daß es nicht direkt in die DNS-Synthese eingreift (s.o.), daß sein Effekt auf die DNS-Synthese sekundär Folge der erhöhten Protein- und RNS-Synthese ist (Korner 1965). Die Hormon-substituierten Tiere zeigen eine Gewichtszunahme, d.h. eine bessere Nahrungsverwertung. Dieser verbesserte Ernährungszustand der Tiere hat sicherlich auch eine verbesserte Proteinsynthese und damit Enzymsynthese in der Leber zur Folge. Es ist also durchaus denkbar, daß auch diejenigen Elemente vermehrt synthetisiert werden, die für die Vorbereitung zur DNS-Synthese notwendig sind (z.B. Thymidylat-Kinase, Fast et al. 1970, Akamatsu et al. 1971)- Ebenso wie sich auch durch vergrößertes Substratangebot der Einbau von Aminosäuren in Protein unter STH Gabe beschleunigen läßt (Clemens und Korner 1970), ist es denkbar, daß unter STH Einfluß vermehrt Vorläufer der späteren, zur DNS-Synthese notwendigen, Schritte gebildet werden. Zumindest in diesem Punkt aber kann die STH Gabe den Zustand vor Hypophysektomie wieder herstellen und damit die zeitliche Verschiebung des DNS-Synthesebeginns aufheben.

Auch die Tatsache, daß bei hypophysektomierten, STH substituierten Tieren die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen zum maximalen Syntheszeitpunkt gegenüber den Kontrollen und nicht substituierten Tieren absolut zugenommen hat, darf als Zeichen einer verstärkten Enzymaktivierung oder -synthese aufgefaßt werden.

Zur Höhe des Markierungsindex 42 Stunden nach der Teilhepatektomie ist zu bedenken, daß sie nicht ausschließlich Folge der STH-Substitution sein muß. Durch Hypophysektomie wird auch die ACTH Sekretion aufgehoben, der Serum- und Gewebsgehalt an Glucocorticoiden sinkt. Die Wirkung dieser Situation auf die DNS-Synthese ist im Versuch Teil IV ausführlich beschrieben. Der Wegfall inhibitorischer Komponenten hat sicherlich Einfluß auf die Größe der DNS-Synthese. Wenn sich dieser Einfluß bei nicht substituierten hypophysektomierten Tieren nicht manifestieren konnte, so mag das eine Folge des schlechten Ernährungszustandes der Tiere sein. Ein Hungerzustand beeinflußt ja, wie der Hungerversuch Teil II deutlich zeigt, die Größe der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie. Sowie aber der Ernährungszustand der Tiere, sichtbar an der Gewichtszunahme, besser wird, ist daher denkbar, daß sich der Ausfall der inhibitorischen Glucocorticoide auf die DNS-Synthese bemerkbar machen kann. Wenn CATER und HEMINGWAY (1958) glaubten, daß für eine Steigerung der Mitosezahl bei hypophysektomierten Ratten die gleichzeitige Gabe von Cortison und STH notwendig sei, so kann diese Ansicht, was die DNS-Synthese anlangt, nicht bestätigt werden. Die Anzahl DNS-synthetisierender Zellen ist bei hypophysektomierten Tieren genauso hoch wie bei normalen Tieren (Rabes 1969), zu einer weiteren Steigerung der Zahl synthetisierender Zellen genügt aber die alleinige Gabe von STH. Inwieweit allerdings

die S-Phase bei jeder Einzelzelle eine Mitose folgt, ist nicht zu sagen. Sicherlich muß in Betracht gezogen werden, daß in vielen Zellen die DNS-Synthese nur der Schritt zur Entwicklung einer höheren, dem physiologischen Alter entsprechenden Ploidiestufe ist (siehe Di Stefano und Diermeier 1959). Die beobachtete höhere DNS-Synthese kann also mehrere verschiedene Ursachen haben. Die gegebene Versuchsanordnung läßt keine genauen Schlüsse zu, ob der nach STH Gabe wieder fortschreitende Prozeß der Polyploidisierung, die vermehrte und verbesserte Protein-Synthese oder der Wegfall inhibitorischer Hormone bei verbesserter Ernährungslage die Ursache für diese DNS-Synthesezunahme bei den STH behandelten gegenüber den unbehandelten hypophysektomierten Ratten ist.

Die zeitliche Verschiebung des Maximums der DNS-Synthese bei regelrechtem Einsetzen weist darauf hin, daß der Einfluß des Hormons auf die DNS-Synthese, entsprechend dem Einfluß anderer Hormone, nur modulierend ist. Die größte Bedeutung des Hormons scheint darin zu liegen, daß Syntheseprozesse nicht verzögert werden. Zwar wird der Prozeß, hier die DNS-Synthese, nicht durch das STH induziert, die Dauer des Zeitabstandes zwischen Induktionsreiz und Einsetzen der Reaktion scheint dagegen hormonabhängig zu sein. Gleiches gilt für die andere Syntheseprozesse. So steigt die RNS-Polymeraseaktivität bei hypophysektomierten Ratten erst 12 Stunden nach Teilhepatektomie, d.h. 6 Stunden verspätet, an, die Desoxythymidinkinase, die sonst 20 - 24 Stunden nach der Teilhepatektomie ansteigt, zeigt erst nach 39 Stunden eine erhöhte Aktivität. Durch STH Substitution ließen sich diese zeitlichen Verzögerungen aufheben und die normalen Zustände erreichen (Akamatsu et al. 1971). Diese Beobachtungen sprechen überzeugend für die Ansicht,

daß der 'rechtzeitige' Beginn der DNS-Synthese bei STH-substituierten, hypophysektomierten Tieren Folge der normalisierten präproliferativen Phase des Zellzyklus ist. FUJIOKA und Mitarbeiter (1963) berichten, daß die Unterdrückung der RNS-Synthese für einige Zeit auch eine Verzögerung der DNS-Synthese um die gleiche Zeit zur Folge hat. Wenn daher die Aktivität der RNS-Polymerasen nach Hypophysektomie verspätet ansteigt und damit auch der RNS-Anstieg später einsetzt, kann auch die DNS-Synthese nicht rechtzeitig beginnen. Die Vorverlegung des DNS-Synthesebeginns nach STH Gabe ist Folge der Beschleunigung enzymatischer Schritte unter STH, die durch Stimulierung der Protein-Neogenese und die Einwirkung des STH auf die zellulären Funktionen ermöglicht wurden. RUSSEL und SNYDER (1969) bestätigen die Korrektur der zeitlichen Verschiebungen, die im DNS-Syntheseprozess bei hypophysektomierten Tieren auftritt, durch STH auch für die Ornithin-decarboxylase (ORD). Aufgrund ihrer Befunde kommen sie zu der Auffassung, daß es eine STH abhängige frühe Phase der Antwort der ORD Aktivität auf Hepatektomieereiz gibt, und daß 24 Stunden nach dem Eingriff eine STH unabhängige Phase erreicht wird. Aufgrund der zeitlichen Verhältnisse der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie scheint es sinnvoll, auch in der DNS-Syntheseaktivität eine STH-abhängige und eine STH-unabhängige Phase zu postulieren. So kann STH in der ersten Phase den Beginn der Synthese beeinflussen, später, in der zweiten Phase läuft die DNS-Synthese auch ohne STH Wirkung ab. Gabe von Hormon hätte keinen weiteren Einfluß auf den Ablauf der begonnenen DNS-Synthese.

5. Zusammenfassung

Hypophysektomie und Ausschaltung des Hypophysenvorderlappens führt zum Verlust der HVL-Hormone. Die HVL-Hormon-abhängigen Organe atrophieren, das Wachstum sistiert.

Die Leber behält auch bei Verlust des HVL ihre Regenerationskapazität, der Regenerationsverlauf wird modifiziert.

Die Hypophysektomie führt zu einem verspäteten Beginn der DNS-Synthese der regenerierenden Nagerleber nach Teilhepatektomie. Die Anzahl der DNS-synthetisierenden Zellen ist zum Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese, der um etwa 15 Stunden verspätet auftritt, ebenso hoch wie bei Kontrollen.

Eine Substitution der hypophysektomierten Tiere mit einem gereinigten Schweine-Wachstumshormon-Präparat bewirkt einen Beginn der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie, der gegenüber nicht hypophysektomierten Tieren nur geringfügig verzögert ist.

Der Zeitpunkt der maximalen DNS-Synthese liegt bei den STH-substituierten Tieren nicht früher als bei den nicht substituierten, hypophysektomierten Tieren und ist damit gegenüber diesem Zeitpunkt bei normalen Tieren weiterhin um 15 - 16 Stunden verzögert.

Zu diesem Zeitpunkt befinden sich in der Leber der substituierten gegenüber den nicht-substituierten Tieren mehr Hepatozyten in der DNS-Synthesephase. Es resultiert ein höheres Verhältnis TdR³H-markierten Zellen zu unmarkierten Zellen. Dieses Verhältnis ist auch im Vergleich mit Kontrollgruppen erhöht.

Der anabole Effekt des STH könnte die Ursache für den Beginn der DNS-Synthese zum normalen Zeitpunkt sein. Die Verbesserung der Ernährungssituation, nachgewiesen durch die

Zunahme des Körpergewichtes, könnte den Effekt des Wegfalls inhibitorischer Einflüsse der Glucocorticoide auf die DNS-Synthese deutlich werden lassen. Die DNS-synthesisierenden Zellen können sowohl eine Mitose, als auch eine Endomitose durchlaufen, da STH auch für die Entwicklung der altersentsprechenden Ploidiestufe der Leberzelle verantwortlich ist.

Dem Wachstumshormon können auf die regenerativen Prozesse der Leber nur im Wesentlichen modulierende Einflüsse zugesprochen werden. Es scheint den prinzipiellen Regenerationsmechanismus nicht zu verändern.

C. A N H A N G

Überlegung zur Initiation der Zellproliferation in der Leber nach Teilhepatektomie

Die Entfernung von $2/3$ des Leberparenchyms führt zu einer plötzlichen funktionellen Mehrbelastung des Restparenchyms. Nach den Vorstellungen BÜCHNERS und Mitarbeitern (1963) ist das restliche Drittel der Leber dieser Stoffwechselanforderung nicht mehr gewachsen, die Einzelzelle ist überlastet und nach kurzer Zeit ihr Ergastoplasma zerstört. Diese 'Entdifferenzierung' ist nach Büchners Vorstellung der notwendige Schritt, damit die Hepatozyten die volle Fähigkeit zur Mitose zurückgewinnen. Die vermehrte Fettansammlung in den Hepatozyten nach der Teilhepatektomie (Bucher 1967), die verminderte Gallepigment- und Albuminproduktion, die verlangsamte Exkretion von Pharmaka und Bilirubin (Harkness 1957, Weinbren 1959, Bucher 1967) sind sicherlich Folgen funktioneller Überlastungen. Obwohl diese Veränderungen kein Hinderungsgrund für die regenerativen Prozesse sind (Simek et al. 1970), gibt es wenig Indizien dafür, daß sie die regenerativen Prozesse initiieren (Bucher 1963, Bullough 1965, Bucher 1967), im Gegenteil, sie scheinen die Regenerationsprozesse in der Leber zu verlangsamen (Simek et al. 1970).

Jede funktionelle Mehrbelastung führt sekundär zur Einbeziehung der gen-loci und der RNS (Hechter und Halkerston 1965) ohne jedoch notwendigerweise Einfluß auf den Zellzyklus zu haben.

Andere beobachtete Erscheinungen, wie die Lösung der Ribosomen von den Membranen, können sowohl als Dedifferen-

zierung (Bücher et al. 1963) wie auch als Umstellung auf eine verstärkte Bildung von Proteinen für zelluläre Bedürfnisse zugunsten der Bildung von Serumproteinen aufgefaßt werden (Bucher 1967). Wahrscheinlich sind diese Veränderungen (siehe auch Teil II) keine Initiatoren der Vorbereitung auf die Mitose (Becker und Lane 1966). TUCZAK (1970) hält es für möglich, daß eine erhöhte funktionelle Belastung zunächst eine unspezifische zelluläre Reaktion bewirkt, die dann 3 - 6 Stunden nach der Teilhepatektomie proliferationspezifische Syntheseschritte zur Folge hat.

Anderen Faktoren, wie der Anwesenheit von nekrotischem Lebergewebe in der Bauchhöhle nach Teilhepatektomie (McJunkin und Breuhaus 1931) und Leberhomogenaten (Teir und Ravanti 1953, Blomquist 1957), die die DNS-Synthese steigern sollen, wird ebenfalls eine Bedeutung, wenn auch keine initiiierende, für die regenerativen Prozesse zugeschrieben (Lit. siehe Brändle 1966, Grözinger 1971).

Ebenso wie die funktionelle Mehrbelastung wurde auch der plötzliche Anstieg des portalen Druckes nach Teilhepatektomie (Alston und Thomson 1963) als auslösender Regenerationsreiz diskutiert. So fanden LIEBERMAN und KANE (1964) nach partieller Ischämie des Lebergewebes in den durchbluteten Teilen in Abhängigkeit von der Zeit und der Menge des ligierten Gewebes Änderungen in der RNS-Synthese, die denen nach Teilhepatektomie gleichen (für DNS-Synthese siehe Tsukada und Lieberman 1965a). Der portale Druck hat sich nach 24 Stunden wieder normalisiert (Alston und Thomson 1963) und WEINBRENN (1955) konnte nachweisen, daß die Leber auch in Abwesenheit des portalen Blutflusses zur Regeneration fähig ist. TSUKADA und LIEBERMAN (1965a) fügen hinzu, daß auch die Erhöhung der RNS-Polymerase-Synthese in ihren Ligationsversuchen kein direkter Effekt des gestörten Leberflusses ist.

So scheint die Ansicht von ROUS und LARIMORE (1920) bestätigt zu sein, daß die Erhöhung des portalen Blutflusses nicht die Auslösung der Regeneration bewirkt und auch die veränderten Strömungsverhältnisse nach Teilischämie keine entscheidende proliferationsauslösende Bedeutung haben (Grözinger 1971; s.a. Schindler 1969).

Wenn auch der portale Blutfluß nicht der auslösende Regenerationsmechanismus ist, so scheinen doch die Beobachtungen an Parabiose-Tieren deutlich für ein humorales Agens zu sprechen, welches für die Regulation der Regenerationsprozesse verantwortlich ist. Die Erhöhung der Mitoserate der normalen Leber durch Gabe von Serum teilhepatektomierter Tiere, bzw. die Senkung der Mitoserate der regenerierenden Leber durch Gabe von Normalserum, ist nach GRISHAM und Mitarbeitern (1966) abhängig von der ausgetauschten Blutmenge. Das DNS-Synthesemaximum wird bei teilhepatektomierten Tieren nach Austauschtransfusion mit Normalserum deutlich gesenkt und zeitlich verschoben. Diese Feststellung konnte von MOOLTEN und BUCHER (1967) nicht bestätigt werden. Aufgrund ihrer Untersuchungen mit Kreuzzirkulation der As carotides und Vv jugulares bei Parabiosetieren stellten sie im nicht operierten Tier einen 5- bis 7-fachen Anstieg der DNS-Synthese fest, wenn die Kreuzzirkulation zwischen teilhepatektomiertem und normalem Tier lange genug aufrecht erhalten wurde. Auch SAKAI (1970) fand bei Kreuzzirkulation der Aorten zweier Tiere einen deutlichen Anstieg der TdR³H-Inkorporation im nicht teilhepatektomierten Tier. Dennoch blieb der Stimulus für das teilhepatektomierte Tier immer größer als beim normalen Parabionten, ein Hinweis darauf, daß offenbar die Konzentration des humoralen Agens schon beim einmaligen Durchfluß durch die Lebersinus geändert wird (Moolten und Bucher 1967).

Die These von der humoralen Stimulierung der Regenerationsprozesse scheint am besten gesichert zu sein, es besteht aber dennoch weiterhin Unklarheit über die chemische Natur und Struktur dieser humoralen Agentien (ausf. Lit. bei Rabes 1967, Grundmann und Seidel 1969).

ECHAVE LLANOS und Mitarbeiter (1971b) deuten an, daß der Effekt des Serums teilhepatektomierter Tiere auf die mitotische Aktivität der Normalleber auf einen stimulierenden Faktor wie etwa das STM zurückzuführen sein könnte. Von den meisten Untersuchern wird aber ein inhibierender Faktor postuliert, der gewebespezifisch die Proliferation hemmt. Bei Gewebeerlust sinkt seine Konzentration, die vorhandene Proliferationstendenz wird nicht mehr behindert und das Gewebe kann regenerieren. Mit dem zunehmenden Gewebersatz steigt auch die Konzentration des Hemmfaktors wieder und die Proliferation wird soweit gedrosselt, wie es für ein normales Ersatzwachstum notwendig ist (Weiss und Kavanau 1957, Glinos 1958, Tsukada und Lieberman 1965a, Grisham et al. 1966, Rabes 1967, Sakai 1970). Diese These erklärt auch die Beziehung zwischen der regenerativen Antwort und der Menge des entfernten Gewebes (Bucher und Swaffield 1964, Bullough 1965, Sakai 1970).

Der Angriffspunkt dieses Inhibitors ist unklar, er kann entweder für die Derepression von Genen verantwortlich sein (Weiss und Kavanau 1957, Oberdorfer 1970), die Aktivität von funktionellem Protein unterdrücken (Tsukada und Lieberman 1965a) oder als spezifischer endogener Mitosehemmer wirken (Bullough 1965, Laurence und Hansen 1971). BULLOUGH prägte für den Inhibitor in der Epidermis den Begriff 'Chalon'. Diese Chalone sollen ihre mitosehemmende Aktivität nur in Verbindung mit einem weiteren Agens, in diesem Fall dem Adrenalin, voll ausüben können (Erklärung

der mitotischen Tagesrhythmik durch den Tag und Nacht verschieden hohen Adrenalin Spiegel). LAURENCE und HANSEN (1971) halten aufgrund ihrer Ergebnisse das Vorhandensein eines speziellen Chalon-Antagonisten für möglich, dessen Konzentration offenbar wiederum durch Adrenalin und, antagonistisch dazu, Hydrocortison gesteuert wird.

Da diese humoralen Mitoseregulatoren so hochgradige Spezifität aufweisen, glaubt BULLOUGH (1965) nicht, daß sie der Klasse der orthodoxen Hormone zuzurechnen sind, lediglich ihre Regulierung könnte durch Hormone geschehen.

Diese Vorstellung schließt aus, daß Hormone die Initiatoren regenerativer Prozesse sind. Auch die Wirkung der sogenannten mitogenen Hormone wird von BULLOUGH (1965) durch ihre Neutralisation der Chalone erklärt. STH, Testosteron, Oestrogen, Thyroxin usw. können dadurch eine hochgradige Gewebespezifität neben ihren allgemeinen Stoffwechselwirkungen erhalten. Aus den vorliegenden Untersuchungen und den Mitteilungen anderer Autoren (Übersicht bei Bullough 1965) läßt sich nicht auf eine bestimmte Wirkung der Hormone auf einzelne Phasen des Zellzyklus schließen. Überlegungen zum Wirkungsmechanismus der Hormone wurden in Teil 3, 4 und 5 angestellt. Ob sie nun am Repressor oder Derepressor angreifen (Oberdorfer 1970), die Transportrate der Aminosäuren oder die Translation beeinflussen (Korner 1964, Ganong 1971, Rizzo et al. 1971), ihre Wirkung üben sie über die Beeinflussung der Proteinbiosynthese oder des Proteinumsatzes aus, wobei natürlich nicht jedes Hormon in allen Organen gleich aktiv ist (Korner 1964, Widnell und Tata 1966, Ichii und Ikeda 1970). WIDNELL und TATA (1966) zeigten, daß die RNS-Polymerasen des Hepatozytenkernes durch die Gabe von verschiedenen Hormonen (STH, Thyroxin, Testosteron) additiv stimuliert werden können, woraus sie schlies-

sen, daß bei ähnlicher Wirkung dennoch jedes Hormon einen anderen Angriffspunkt hat. Ein gleiches Ergebnis erhielten IP und BROSSARD (1971) bei ihren Untersuchungen mit STH und Hydrocortison. Die vielfältigen synergistischen und antagonistischen Effekte der einzelnen Hormone sind für die Betrachtung ihrer Wirkung auf den Proliferationsmodus zu vernachlässigen. BULLOUGH (1965) mißt den mitogenen Hormonen für die Mitose überhaupt nur insoweit Bedeutung zu, als sie die Balance im allgemeinen Metabolismus aufrechterhalten. Auch die vorliegenden Ergebnisse bieten keinen Hinweis auf eine substantielle Beeinflussung der regenerativen Prozesse nach Teilhepatektomie. Abbildung 11 zeigt noch einmal vergleichend die Modifizierung der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie durch Hunger, Kastration, Adrenalektomie und STH Gabe bei hypophysektomierten Tieren. Die Modifizierungen sind erwartungsgemäß in jeder Versuchsanordnung verschieden. Die Art der jeweiligen Modifizierung läßt sich mit Ausnahme des Kastrationsversuches (Teil 3) mit Wirkungen auf den Proteinstoffwechsel erklären. Der Einfluß der Geschlechtshormone auf die regenerativen Prozesse ist unklar, und auch die von PASCHKIS und CANTAROW (1958) beobachtete Dependenz von Schwangerschaft und Teilhepatektomie scheint eher auf Stoffwechselsituationen als auf direkte Geschlechtshormonwirkungen zurückzuführen sein.

Die Wirkung der Schilddrüsenhormone auf die DNS-Synthese wurde in den vorliegenden Untersuchungen nicht berücksichtigt. CANZANELLI und Mitarbeiter (1949b), MANGALIK und Mitarbeiter (1954) und ADLE und Mitarbeiter (1958) stellten eine Hemmung der Leberregeneration nach Thyreoidektomie und Thyreostatika-Therapie fest. Eine deutliche Modifizierung der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber ist nicht aus-

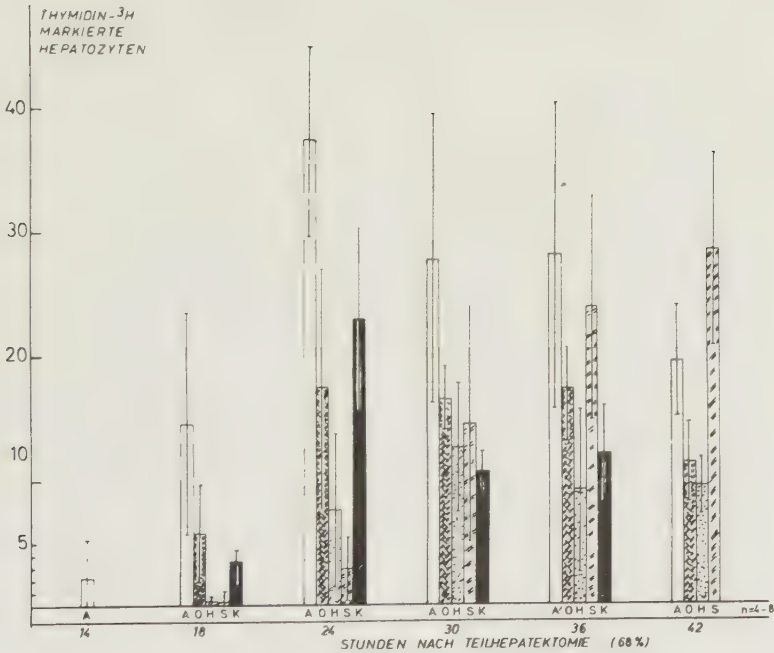


Abbildung 11:
Vergleichende Darstellung der TdR³H-Markierungsindices des Kontroll-(K), Hunger-(H), Kastrations-(O), Adrenalectomie-(A) und STH-Substitutionsversuchs (S) in Abhängigkeit von der Zeit nach Teilhepatektomie. Dargestellt sind die Mittelwerte und die Standardabweichung (vertikale Linien).

zuschließen, zumal Thyroxin-Gabe bei hypophysektomierten Tieren auf die Polyploidisierungsvorgänge (Carrière 1962) und auf die RNS-Polymerasen im Kern (Widnell und Tata 1966) ähnliche Wirkungen hat wie STH-Gabe. Es ist nicht auszuschließen, daß das Absinken der Schilddrüsenhormone bei hypophysektomierten Tieren die von RABES und BRÄNDLE (1969) mitgeteilten typischen Veränderungen des DNS-Syntheseverlaufes bedingt.

Durch die vorliegenden Ergebnisse wird die Ansicht von BRÄNDLE (1966), BUCHER (1967), RABES und BRÄNDLE (1969) bestätigt, daß die durch die Hypophyse abgegebenen oder regulierten Hormone die DNS-Synthese in der regenerierenden Leber beeinflussen, aber nicht initiieren oder substantiell verändern. Der typische DNS-Syntheseverlauf nach Teilhepatektomie bei hypophysektomierten Ratten ist nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen nicht durch den Ausfall eines Hormons oder eines hormonalen Regelkreises bedingt, sondern das Resultat aller durch eine Hypophysektomie bewirkten Veränderungen im hormonellen Gleichgewicht und im Stoffwechsel des Organismus.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Nahrungsentzug, Orchidektomie, Adrenalektomie bei normalen und Gabe von somatotropem Hormon (STH) bei hypophysectomierten Ratten führen zu deutlichen Änderungen im Verlauf der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber gegenüber dem DNS-Syntheseverlauf bei normalen teilhepatektomierten Ratten.

Nahrungsentzug bewirkt einen linearen Körpergewichtsabfall und führt insgesamt zu einer verlangsamten Zellerneuerung der Leberepithelien. Die DNS-Synthese beginnt 18 Stunden nach Teilhepatektomie. Die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen steigt nahezu linear bis zu einem Maximalwert 30 Stunden nach der Operation an. Die Anzahl der Hepatozyten in der S-Phase zum Zeitpunkt maximaler Synthese ist deutlich geringer als bei gefütterten Kontrolltieren. Als auslösende Faktoren dieser Veränderungen werden Proteinverluste und ungenügende Proteinneosynthese der Hepatozyten, mangelnde Energiebereitstellung für den Zellstoffwechsel und der beginnende DNS-Abbau der geschädigten Zellen diskutiert.

Orchidektomie hat keinen Einfluß auf den Zeitpunkt des DNS-Synthese-Beginns nach Teilhepatektomie. Die DNS-Synthese erreicht 24 Stunden nach einer Teilhepatektomie ihren Maximalwert. Für weitere 12 Stunden bleibt die Anzahl DNS-synthetisierender Zellen gleich hoch und fällt dann langsam ab. Als Ursache dieser Veränderungen wird eine Verlängerung der DNS-Synthesephase für möglich gehalten.

Adrenalektomie führt zu einer Vorverlegung des Beginns der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber nach Teilhepatektomie. Der weitere Verlauf der DNS-Synthese ent-

spricht den Verhältnissen bei der normalen regenerierenden Leber, die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen ist jedoch zu allen untersuchten Zeitpunkten wesentlich höher als bei den Kontrolltieren. Die Steigerung der DNS-Synthese scheint Folge des Wegfalls inhibitorischer Wirkungen der Glucocorticoide zu sein. Die Einflüsse von ACTH, der NNR-Androgene und der substituierten Mineralocorticoide sind demgegenüber von geringerer Bedeutung.

Die DNS-Synthese in der regenerierenden Leber von Tieren, die vor der Teilhepatektomie einer Hypophysektomie und später einer STH-Substitution unterzogen wurden, zeigt, im Vergleich zu Kontrolltieren, einen zeitgerechten Beginn, langsamen Anstieg zu maximalen Synthesewerten bei einem Maximum an DNS-synthetisierenden Zellen 42 Stunden nach der Teilhepatektomie. Zu diesem Zeitpunkt befinden sich mehr Hepatozyten in der S-Phase als bei Tieren ohne STH-Substitution. Das STH scheint für den gegenüber nicht substituierten Ratten beschleunigten Beginn und die erhöhte Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen verantwortlich zu sein, während der Zeitpunkt der maximalen Syntheseaktivität durch STH nicht verändert wird; STH-Substitution kann also die Veränderungen, die eine Hypophysektomie auf den Verlauf der DNS-Synthese nach Teilhepatektomie ausübt, nur teilweise aufheben. Die Wirkungen des STH auf die DNS-Synthese scheinen Folge seines allgemeinen anabolen Effektes zu sein, der sich auch in der deutlichen Körpergewichtszunahme nach Einsetzen der STH-Substitution zeigt.

Die Veränderungen, die eine Hypophysektomie bei der Leberregeneration bewirkt, scheinen nicht durch den Ausfall eines Hormones oder hormonalen Regelkreises bedingt, sondern Folge der veränderten endokrinen Gesamtsituation zu sein.

Hormone haben für den Verlauf der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber nur eine modulierende Funktion.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ADDIS, T., POO, L.J. und W. LEW : Protein loss from liver during a two days fast.

J. Biol. Chem. 115, 117 - 118 (1936)

ADLE, E.H., PASCHKIS, K.E. und A. CANTAROW : The influence of thyroid hormone and of thiouracil on liver regeneration in the white rat.

Acta endocrinol. 29, 435 - 441 (1958)

AKAMATSU, N., KAMIYA, T., MAEDA, H.R., ENDO, N., FUKUI, N. und Y. MIURA : Effect of growth hormone upon the RNA-polymerase and deoxythymidinkinase activities of regenerating liver in hypophysectomized rats.

J. Biochem. 69, 1091 - 1095 (1971)

ALSTON, W.C. und R.Y. THOMSON : Humoral and local factors in liver regeneration.

Canc. Res. 23, 901 - 905 (1963)

AMANO, M., MESSIER, B. und C.P. LEBLOND : Autoradiographic investigation of incorporation of H^3 -Thymidine into cells of the rat and the mouse.

J. Histochem. Cytochem. 7, 153 - 155 (1959)

ANDERSON, K.M., CROSTHWAIT, H.C. und M. SLAVIK : Incorporation of amino acids into proteins catalyzed by prostate nuclei.

Exp. Cell Res. 66, 273 - 282 (1971)

- BECKER, F.F. und B.P. LANE : Regeneration of mammalian liver. I. Autophagocytosis during dedifferentiation of the liver cell in preparation for cell division. Am. J. Pathol. 47, 783 - 801 (1965)
- BECKER, F.F. und B.P. LANE : Regeneration of mammalian liver. IV. Evidence of the role of cytoplasmic alterations in preparation for mitosis. Am. J. Pathol. 49, 227 - 238 (1966)
- BENGMARK, S. und R. OLSSON : Effect of testosterone on liver healing after partial hepatectomy. Acta chir. Scand. 127, 93 - 100 (1964)
- BERMAN, D., SYLVESTER, M., HAY, E.C. und H. SELYE : The adrenal and early hepatic regeneration. Endocrinology, 41, 258 - 264 (1947)
- BIRGE, C.A., PEAKE, G.T., MARIZ, I.K. und W.H. DAUGHA - DAY : Radioimmunoassayable growth hormone in the rat pituitary gland. Effects of age, sex and hormonal state. Endocrinology. 81, 195 - 204 (1967)
- BLOBEL, G. und V.R. POTTER : Studies on free and membrane bound ribosomes in rat liver. II. Interaction of ribosomes and membranes. J. Mol. Biol. 26, 293 - 301 (1967)
- BLOMQUIST, K. : Growth stimulation in the liver and tumor development following intraperitoneal injections of liver homogenates in the rat. Acta path. microbiol. scand. Suppl. 121, 1-65 (1957)

- BRÄNDLE, H. : Untersuchungen zur Leberregeneration in hypophysektomierten Ratten.
Dissertation, München 1966
- BRUES, A.M., BRURY, D.R. und M.C. BRUES : A quantitative study of cell growth in regenerating liver.
Arch. Pathol. 22, 658 - 673 (1936)
- BUCHER, N.L.R. : Regeneration of mammalian liver.
Int. Rev. Cytol. 15, 245 - 300 (1963)
- BUCHER, N.L.R. : Experimental aspects of hepatic regeneration.
New Engl. J. Med. 277, 686 - 696 (1967)
- BUCHER, N.L.R. und M. SWAFFIELD : The rate of incorporation of labelled thymidine into the DNA of regenerating rat liver in relation to the amount of liver excised.
Canc. Res. 24, 1611 - 1625 (1964)
- BUCHER, N.L.R. und M. SWAFFIELD : Ribonucleic acid synthesis in relation to precursor pools in regenerating rat liver.
Biochim Biophys. Acta 174, 491 - 502 (1969)
- BUCHER, N.L.R., SWAFFIELD, M.N. und J.E. DI TROIA :
The influence of age upon the incorporation of thymidine-2-C¹⁴ into the DNA of regenerating rat liver.
Canc. Res. 24, 509 - 512 (1964)

- BÜCHNER, F., OEHLERT, W. und H. NOLTENIUS : DNS, RNS und Protein bei der Regeneration und Kanzerisierung im Experiment.
DMW 88, 2277 - 2283 (1963)
- BULLOUGH, W.S. : Stress and epidermal mitotic activity.
I. The effect of the adrenal hormones.
J. Endocrinol. 8, 265 - 274 (1952)
- BULLOUGH, W.S. : Mitotic and functional homeostasis.
A speculative review.
Canc. Res. 25, 1683 - 1727 (1965)
- BUREK, C.L. and L.A. FROHMAN : Growth hormone synthesis by rat pituitaries in vitro: effect of age and sex.
Endocrinology. 86, 1361 - 1367 (1970)
- CAMARGO, A.C.M., CORNICELLI, J. und S.S. CARDOSO :
Alteration in lipid content of the liver in the rat after partial hepatectomy.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 122, 1151 - 1154 (1966)
- CAMPBELL, R.M. und H.W. KOSTERLITZ : The effect of growth and sex on the composition of the liver cells of the rat.
J. Endocrinol. 6, 308 - 318 (1950)
- CAMPBELL, R.M. und H.W. KOSTERLITZ : The absence of dietary effects on the DNA content of rat liver nuclei of the adult rat.
Science 115, 84 (1952)

- CANZANELLI, A., GUILD, R. und D. RAPPORT : Pituitary and adrenocortical relationship to liver regeneration and nucleic acids.
Endocrinology. 45, 91 - 95 (1949a)
- CANZANELLI, A., RAPPORT, D. und R. GUILD : Control of liver regeneration and nucleic acid content by the thyroid with observations on the effects of pyrimidines.
Am. J. Physiol. 157, 225 - 233 (1949b)
- CARRIÈRE, R. : Role of the thyroid gland on the control of polyploid cell formation of the rat liver.
Endocrinology. 70, 761 - 773 (1962)
- CATER, D.B., HOLMES, B.E. und L.K. MEE : Cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat.
Acta radiol. 46, 655 - 667 (1956)
- CATER, D.B., HOLMES, B.E. und L.K. MEE : The effect of growth hormone upon the cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat.
Biochem. J. 66, 482 - 486 (1957)
- CHARTERS, A.C., ODELL, W.D. und J.C. THOMPSON : Anterior pituitary function during surgical stress and convalescence.
J. Clin. Endocrin. Metab. 29, 63 - 71 (1969)
- CHERRY, C.P., BLAND, M.N., CONSTABLE, B.J., HUGHES, R.E. und L.J. HARRIS : Morphology of the enlarged liver in guinea pigs treated with ACTH or cortisone.
Brit. J. Exp. Pathol. 35, 551 - 555 (1954)

CHRISTENSEN, B.G. und E. JACOBSEN : Studies on liver regeneration.

Acta med. scand. Suppl. 234, 103 - 108 (1949)

CLEMENS, M.J. und A. KORNER : Amino acid requirement for the growth hormone stimulation of incorporation of precursors into protein and nucleic acids of liver slices.

Biochem. J. 119, 629 - 634 (1970)

CLERICI, E., MOCARELLI, P. und L. PROVINI : Rat liver regeneration after partial hepatectomy and sympathetic denervation.

Exp. molec. Path. 3, 569 - 582 (1964)

COWDRY, E.V. : Cells and their behavior.

in: Anderson, Pathology. C.V. Mosby Co. St. Louis 1953

DICKERMAN, E., NEGRO-VILAR, A. und J. MEITES : Effects of starvation on plasma GH activity, pituitary GH and GH-RF levels in the rat.

Endocrinology. 84, 814 - 819 (1969)

DI STEFANO, H.S. und H.F. DIERMEIER : Effects of restricted food intake and growth hormone on rat liver protein and nucleic acids.

Endocrinology. 64, 448 - 454 (1959)

DI STEFANO, H.S., DIERMEIER, H.F. und J. TEPPERMAN :

Effect of growth hormone on nucleic acid and protein content of rat liver cells.

Endocrinology. 57, 158 - 167 (1955)

- DI STEFANO, H.S., BASS, A.D., DIERMEIER, H.F. und J.
TEPPERMAN : Nucleic acid patterns in rat liver following hypophysectomy and growth hormone administration. Endocrinology. 51, 386 - 393 (1952)
- DOLJANSKI, F., ROSENTHAL, J. und S. EISENBERG : Liver regeneration in starved rats. Exp. Molec. Path. 5, 263 - 272 (1966)
- DYKSTRA, W.G.(jr.) und E.J. HERBST : Spermidine in regenerating liver: Relation to rapid synthesis of ribonucleic acid. Science. 149, 428 - 429 (1965)
- ECHAVE LLANOS, J.M., GOMEZ DUMM, C.L. und A.C. NESSI : Ultrastructure of STH cells of the pars distalis of hepatectomized mice. Z. Zellforsch. 113, 29 - 38 (1971a)
- ECHAVE LLANOS, J.M., GOMEZ DUMM, C.L. und J.M. SURUR : Growth hormone release after hepatectomy. Experientia. 27, 574 - 575 (1971b)
- EINHORN, S.L., HIRSCHBERG, E. und A. GELLHORN : Effects of cortisone on regenerating rat liver. J. Gen. Physiol. 37, 559 - 573 (1954)
- ENWONWU, C.O., STAMBAUGH, R. und L. SREEBNY : Synthesis and degradation of liver ribosomal RNA in fed and fasted rats. J. Nutr. 101, 337 - 345 (1971)

- EVANS, H.M., UYEI, N., BARTZ, Q.R. und M.E. SIMPSON :
The purification of the anterior pituitary growth
hormone by fractionating with ammonium sulfat.
Endocrinology. 22, 483 - 492 (1938)
- FABRIKANT, J.I. : The kinetics of cellular proliferation
in regenerating liver.
J. Cell Biol. 36, 551 - 565 (1968)
- FAST, D.K., GARLAND, M. und J.F. RICHARDS : The effect
of growth hormone on DNA synthesis in rat spleen.
Exp. Cell Res. 62, 441 - 446 (1970)
- FAUSTO, N. : The control of ornithine decarboxylase
activity during liver regeneration.
Biochim. Biophys. Acta. 238, 116 - 128 (1971)
- FAZEKAS, I.G. und A.T. FAZEKAS : Die Wirkung der Adrenal -
ektomie auf Corticosteroidfraktionen der Rattenorgane.
Endokrinologie. 50, 20 -32 (1966)
- FEIGELSON, M., GROSS, P.R. und P. FEIGELSON : Early
effect of cortisone on nucleic acid and protein
metabolism of rat liver.
Biochim. Biophys. Acta. 55, 495 - 504 (1962)
- FERRARI, V. und R.D. HARKNESS : Free amino acids in
liver and blood after partial hepatectomy in normal
and adrenalectomized rats.
J. Physiol. 124, 443 - 463 (1954)

- FISHER, E.R. und B. FISHER : Ultrastructural hepatic changes following partial hepatectomy and portocaval shunt in the rat.
Lab. Invest. 12, 929 - 942 (1963)
- FÖRSTER, H. : Zyklisches Adenosinmonophosphat.
DMW 96, 251 - 256 (1971)
- FRANKE, H., SCHREMPPEL, A. und E. GOETZE : Die Wirkung der Adrenalektomie auf die Feinstruktur der Leberzelle der Ratte.
Acta biol. med. germ. 26, 791 - 798 (1971)
- FRANSEEN, C.C., BRUES, A.M. und R.L. RICHARDS : The effect of hypophysectomy on the restoration of the liver following partial hepatectomy in rats.
Endocrinology. 23, 292 - 301 (1938)
- FRIEDEN, E.H. und CHIA-CHUAN KU : Acute effects of testosterone propionat upon RNA synthesis in mouse kidney.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 137, 1010 - 1114 (1971)
- FRIEDMAN, R.C. und S. REICHLIN : Growth hormone content of the pituitary gland of starved rats.
Endocrinology. 76, 787 - 788 (1965)
- FUJIOKA, M., KOGA, M. und I. LIEBERMAN : Metabolism of ribonucleic acid after partial hepatectomy.
J. Biol. Chem. 238, 3401 - 3406 (1963)
- GANONG, W.F. : Medizinische Physiologie.
I. Aufl. übers. und bearb. von W. Auerswald
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1971)

- GESCHWIND, I.I., LI, C.H. und M.H. EVANS : The effect of hypophysectomy, growth and adrenocorticotrophic hormones on the incorporation of P^{32} into liver phospholipids.
Endocrinology. 47, 162 - 165 (1950)
- GESCHWIND, I.I., LI, C.H. und H.M. EVANS : Effect of hypophysectomy and of growth hormone on the uptake of radioactive phosphor by tissues.
Arch. Biochem. 31, 168 - 182 (1951)
- GLICK, S.M., ROTH, J., YALOW, R.S. und S.A. BERSON : The regulation of growth hormone secretion.
Rec. Progr. Horm. Res. 21, 241 - 283 (1965)
- GLINOS, A.D. : The mechanism of liver growth and regeneration. in: A symposium on the chemical basis of development. hrsg. v. McElroy u. Glas.
John Hopkins press, Baltimore 1958
- GLINOS, A.D. : Environmental feedback control of cell division .
Ann. N.Y. Acad. Sc. 90, 592 - 602 (1960)
- GOODMAN, H.M. : Effects of growth hormone on glucose utilisation in diaphragm muscle in the absence of increased lipolysis.
Endocrinology. 81, 1099 - 1103 (1967)
- GREENWOOD, F.C. : Growth hormone. in: Hormones in blood. hrsg: Gray u. Bacharach.
Academic Press, London 1967

- GRISHAM, J.W. : A morphologic study of DNA-synthesis and cell proliferation in regenerating rat liver.
Autoradiography with thymidine- H^3
Canc. Res. 22, 842 - 849 (1962)
- GRISHAM, J.W., LEONG, G.F., ALBRIGHT, M.L. und J.C.
EMERSON : Effect of exchange transfusion on labelling of nuclei with thymidine- H^3 and on mitosis in hepatocytes of normal and regenerating rat liver.
Canc. Res. 26, 1476 - 1485 (1966)
- GRÖZINGER, R.D. : Temporäre partielle Ischämie als Proliferationsreiz für das Leberparenchym.
Dissertation, München 1971
- GRUNDMANN, E. und H.J. SEIDEL : Die reparative Parenchymregeneration am Beispiel der Leber nach Teilhepatektomie.
in: Handbuch der allgem. Pathologie Bd. VI/ 2
hrsg. v. F.Büchner. Seite 129 - 243
Springer Verlag, Heidelberg 1969
- GURD, F.N., VARS, H.M. und I.S. RAUDIN : Composition of the regenerating liver after partial hepatectomy in normal and protein depleted rats.
Am. J. Physiol. 152, 11 - 21 (1948)
- GUZEK, J.W. : Effect of corticotropin and cortison on the incorporation of H^3 -thymidine into the DNA of the regenerating liver in the white rat.
Acta Endocrin. 59, 10 - 21 (1968)
- HAHN, E.W. : Survival of adrenalectomized Long-Evans and Sprague Dawley rats.
Lab. Anim. Care. 19, 724 - 726 (1969)

- HARKNESS, R.D. : Regeneration of the liver.
Brit. Med. Bull. 13, 87 - 93 (1957)
- HARRISON, M.F. : Effect of starvation on the composition
of the liver cell.
Biochem. J. 55, 204 - 210 (1953)
- HECHT, L.I. und V.R. POTTER : Nucleic acids metabolism
in regenerating rat liver. I. The rate of deoxyribo -
nucleic acid synthesis in vivo.
Canc. Res. 15, 988 - 993 (1956)
- HECHTER, O und I.D.K. HALKERSTON : Effect of steroid
hormones on gene regulation and cell metabolism.
Ann. Rev. Physiol. 27, 133 - 162 (1965)
- HEINE, W.D. und E. STÖCKER : Zum Proliferationsmodus der
Rattenleber nach modifizierter Teilhepatektomie.
Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H - Thymidin.
Klin. Wschr. 46, 395 - 396 (1968)
- HEINE, W.D. und E. STÖCKER : Der Proliferationsmodus der
Leber seniler Ratten nach Teilhepatektomie.
Verh. dt. Ges. Path. 54, 550 - 554 (1970)
- HEMINGWAY, J.T. : Withdrawal of inhibition of mitosis as
a mechanism influencing normal and pathological growth.
Nature (Lond) 185, 106 - 107 (1960)
- HEMINGWAY, J.T. : Comparison of the influence of the adre-
nal cortex with adrenal medulla on inhibition of
mitosis in rat regenerating liver.
Proc. Physiol. Soc. 12, 25 - 26 (1964), beigeheftet
J. Physiol. 176, 30p (1965)

- HEMINGWAY, J.T. und D.B. CATER : Effects of pituitary hormones and cortisone upon the liver regeneration in hypophysectomized rat.
Nature (Lond.) 181, 1065 - 1066 (1958)
- HENDERSON, I.C., FISHEL, R.E. und J.N. LOEB : Suppression of liver DNA synthesis by cortisone.
Endocrinology. 88, 1471 - 1476 (1971)
- HIGGINS, J.M. und R.M. ANDERSON : Pathology of the liver of the white rat following partial surgical removal.
Arch. Path. 12, 186 - 202 (1931)
- HIGGINS, J.M. und D.J. INGLE : Regeneration of liver in hypophysectomized white rats.
Anat. Rec. 73, 95 - 104 (1939)
- HORVÁTH, E. und K. KOVACS : Beiträge zur Rolle der Nebennieren in der Regeneration der Leber.
Z. ges. exp. Med. 127, 236 - 240 (1956)
- ICHII, S. und A. IKEDA : Effect of adrenalectomy and gonadectomy on protein turnover of liver, kidney and spleen of mouse.
Endocrinol. japon. 17, 273 - 276 (1970)
- ILLIG, R., ZACHMANN, M. und A. PRADER : Menschliches Wachstumshormon.
Klin. Wochschr. 47, 117 - 123 (1969)
- INGLE, D.J. : Steroid Hormones. hrsg: E.S. Gordon
University of Wisconsin Press, 1950 (Seite 150)

- IP, P.M.K. und M. BROSSARD : Differential effects of growth hormone and hydrocortisone on nuclear RNA synthesis in rat liver.
Can. J. Biochem. 49, 853 - 862 (1971)
- JACOB, S.T., SAJDEL, E.M. und H.N. MUNRO : Regulation nucleolar RNA metabolism by hydrocortisone.
Europ. J. Biochem. 7, 449 - 453 (1969)
- JAFFE, J.J. : Diurnal mitotic periodicity in regenerating rat liver.
Anat. Rec. 120, 935 - 954 (1954)
- KLINGE, O. und J. MATHYL : Tageszeitliche Mitoserhythmen in der teilhepatektomierten Rattenleber.
Virch. Arch. Abt. B, Zellpath. 2, 154 - 162 (1969)
- KLOSTERHALFEN, H., VOIGT, K.D. und J. TAMM : Die Wirkung der Orchidektomie auf die Ausscheidung von Testosteron, 17-Ketosteroiden, Oestrogenen, Pregnandiol, 17-OH-Corticosteroiden und Gonadotropinen im Urin.
Urol. int. 20, 364 - 375 (1965)
- KORNER, A. : The effect of hypophysectomy of the rat and of treatment with growth hormone on the incorporation in vivo of radioactive amino acids into the proteins of subcellular fractions of rat liver.
Biochem. J. 74, 462 - 471 (1960a)
- KORNER, A. : The role of the adrenal gland in the control of amino acid incorporation into protein of isolated rat liver microsomes.
J. Endocrin. 21, 177 - 189 (1960b)

- KORNER, A. : Studies on incorporation of amino acids into protein in isolated rat liver ribosomes.
Biochem. J. 81, 168 - 178 (1961)
- KORNER, A. : Regulation of the rate of synthesis of messenger ribonucleic acid by growth hormone.
Biochem. J. 92, 449 - 456 (1964)
- KORNER, A. : Growth hormone control of the biosynthesis of protein and ribonucleic acid.
Rec. Progr. Horm. Res. 21, 205 - 240 (1965)
- KORNER, A. : Anabolic action of growth hormone.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 148, 408 - 418 (1968)
- KOSTERLITZ, H.W. : Effect of dietary protein on liver cytoplasm.
Nature. 154, 207 - 209 (1944)
- KOSTYO, J.L. : Separation of the effects of GH on muscle amino acid transport and protein synthesis.
Endocrinology. 75, 113 - 119 (1964)
- KOSTYO, J.L. und J.A. RILLEMA : In vitro effects of GH on the number and activity of ribosomes engaged in protein synthesis in the isolated rat diaphragm.
Endocrinology. 88, 1054 - 1062 (1971)
- KRAMSCH, D., BECK, V. und W. OEHLERT : Einfluß der Äthioninvergiftung und des Nahrungsmittelentzuges auf die DNS Neubildung in den Wechselgeweben und den parenchymatösen Organen der Ratte.
Beitr. pathol. Anat. 128, 416 - 444 (1963)

- LABHART, A. : Klinik der inneren Sekretion. 2. Aufl.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1971
- LAGERSTEDT, S. : Cytological studies on the protein
metabolism of the liver in the rat.
Acta anat.(Basel), Suppl. 9 1 - 116 (1949)
- LANE, B.P. und F.F. BECKER : Regeneration of mammalian
liver. II. Surface alterations during dedifferentia-
tion of the liver cell in preparation for cell
division.
Am. J. Pathol. 48, 183 - 196 (1966)
- LAURENCE, E.B. und E.R. HANSEN : An in vivo study of epi-
dermal chalone and stress hormones on mitosis in
tongue epithelium and ear epidermis.
Virch. Arch. Abt. B. Zellpath. 9, 271 - 279 (1971)
- LEE, N.D. und R.H. WILLIAMS : The role of the pituitary-
adrenal system in cystin-S³⁵ incorporation into
protein.
Endocrinology. 51, 451 - 456 (1952)
- LIAO, S. und H.G. WILLIAMS - ASHMAN : An effect of
testosterone on amino acid incorporation by prosta-
tic ribonucleoprotein particles.
Proc.nat.Acad. Sci., Wash. 48, 1956 - 1993 (1962)
- LIEBEGOTT, G. : F. Nebennieren, S. 508
in: Pathologie der Laboratoriumstiere. hrsg: Cohrs,
Jaffé und Meesen.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958

- LIEBERMAN, I. und P. KANE : Synthesis of ribosomes in the liver after partial hepatectomy.
J. Biol. Chem. 240, 1737 - 1741 (1965)
- LIEBERMAN, I., KANE, P. und J. SHORT : The portal vein and the control of liver ribonucleic acid metabolism.
J. Biol. Chem. 240, 3140 - 3144 (1965)
- MAC DONALD, R.A. : 'Lifespan' of liver cells.
Arch. intern. Med. 107, 335 - 343 (1961)
- MADEN, B.E.H. : Ribosomen formation in animal cells.
Nature (Lond.) 219, 685 - 689 (1968)
- MAJUMDAR, C., TSUKADA, K. und I. LIEBERMAN : Liver protein synthesis after partial hepatectomy and acute stress.
J. Biol. Chem. 242, 700 - 704 (1967)
- MANGALIK, V.S., MEHROTRA, R.M.L. und K.G. AGARWAL : Role of the thyroid gland in liver regeneration.
Indian. I. M. Sc. 8, 477 - 482 (1954)
- MANN, F.C. : The portal circulation and restoration of the liver after partial removal.
Surgery. 8, 225 - 238 (1940)
- McJUNKIN, F.A. und H.C. BREUHAUS : Homologous liver as a stimulus to hepatic regeneration.
Arch. Pathol. 12, 900 - 908 (1931)

- MOCARELLI, P., PROVINI, L. und E. CLERICI : La rigenerazione del fegato nel ratto sottoposto a vagotomia bilaterale.
Sperimentale. 116, 149 - 157 (1966)
- MOOLTEN, F.L. und N.L.R. BUCHER : Regeneration of rat liver: Transfer of humoral agent by cross circulation.
Science. 158, 272 - 274 (1967)
- MOOLTEN, F., OAKMAN, N.J. und N.L.R. BUCHER : Accelerated response of hepatic DNA synthesis to partial hepatectomy in rats pretreated with growth hormone or surgical stress.
Canc. Res. 30, 2353 - 2357 (1970)
- MURAKAWA, S. und M.S. RABEN : Effect of growth hormone and placental lactogen on DNA synthesis in rat costal cartilage and adipose tissue.
Endocrinology. 83, 645 - 650 (1968)
- NOALL, M.W., RIGGS, T.R., WALKER, L.M. und H.N. CHRISTENSEN : Endocrine control of amino acid transfer.
Science. 126, 1002 - 1005 (1957)
- NYGAARD, O. und H.P. RUSH : Incorporation of radioactive phosphate into nucleic acids of regenerating rat liver.
Canc. Res. 15, 240 - 245 (1955)
- OBERDORFER, A. : Zur Regulation der Proteinbiosynthese durch Sexualhormone. Die Wirkungen von Oestradiolbenzoat und von Testosteronpropionat auf die Konzentration von Serumproteinen.
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 143 zu 64, 7 - 60 (1970)

- OEHLERT, W., HÄMMERLING, W. und F. BÜCHNER : Der zeitliche Ablauf und das Ausmaß der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber der Ratte nach Teilhepatektomie. Beitr. pathol. Anat. 126, 91 - 112 (1962)
- ONISHI, T. : Studies on the mechanism of decrease in the RNA content in liver cells of fasted rats. J. Biochem. 67, 577 - 585 (1970a)
- ONISHI, T. : Studies on the mechanism of decrease in the RNA content in liver cells of fasted rats. II. The mechanism of starvation induced decrease in RNA polymerase activity in liver Biochim. Biophys. Acta. 217, 384 - 393 (1970b)
- ORAVEC, M. und A. KORNER : Stimulation of synthesis of DNA-like and ribosomal RNA by growth hormone. J. Mol. Biol. 58, 489 - 498 (1971)
- OVE, P., TAKAI, S.I., UMEDA, T. und I. LIEBERMAN : Adenosine triphosphate in liver after partial hepatectomy and acute stress. J. Biol. Chem. 242, 4963 - 4971 (1967)
- PALADE, G.E. und P. SIEKEVITZ : Liver microsomes. An integrated morphological and biochemical study. J. Biophys. Biochem. Cyt. 2/I, 171 - 200 (1956)
- PASCHKIS, K.E. : Growth promoting factors in tissues: A review. Canc. Res. 18, 981 - 991 (1958)

- PASCHKIS, K.E. und A. CANTAROW : Pregnancy, tumor growth and liver regeneration.
Canc. Res. 18, 1060 - 1066 (1958)
- PELC, S.R. und T.C. APPLETON : Distribution of tritiated thymidine in various tissues.
Nature (Lond.). 205, 1287 - 1289 (1965)
- PEREZ - TAMAYO, R., MURPHY, W.R. und M. IHNEN : Effect of cortisone and partial starvation on liver regeneration.
A.M.A. Arch. Pathol. 56, 629 - 636 (1953)
- PETERS, G. : Die Verteilung von Wasser und Elektrolyten im Organismus normaler und adrenalectomierter Ratten.
Naun.-Schmiedeb. Arch. exp. Path. Pharm. 237, 119 - 150 (1959)
- PETERS, R. : Die Mitosehäufigkeit in der Rattenleber in Abhängigkeit von der Tageszeit, dem Gewicht der Tiere und der Ernährung.
Z. f. Naturforsch. 17b, 164 - 168 (1962)
- PFEIFFER, E.F. und F. MELANI : Menschliches Wachstumshormon.
DMW 93, 846 - 856 (1968)
- PODWYSSOZKI, W.v. : Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe.
Beitr. path. Anat. 1, 259 - 360 (1886)

- POST, J., HIMES, M.B., KLEIN, A. und J. HOFFMAN :
Responses of liver to injury.
A.M.A. Arch. Pathol. 64, 278 - 283 (1957)
- RAAB, K.H. und T.E. WEBB : Inhibition of DNA synthesis
in regenerating rat liver by hydrocortisone.
Experientia. 25, 1240 - 1242 (1969)
- RABES, H. : Untersuchungen zur humoralen Regulation bei
regenerativem und malignem Wachstum.
Veröffentlichungen a.d. morphol. Pathologie Bd. 73
Stuttgart 1967
- RABES, H. : Beeinflussung der Proliferationsaktivität
normaler und maligner Gewebe durch Hypophysektomie.
Z. Krebsforsch. 72, 176 - 184 (1969)
- RABES, H. und H. BRÄNDLE : Beziehungen zwischen RNS-
und DNS-Synthese bei der Leberzellproliferation
nach partieller Hepatektomie.
Virch. Arch. Abt.B. Zellpath. 1, 317 - 322 (1968)
- RABES, H. und H. BRÄNDLE : Synthesis of RNA, protein
and DNA in the liver of normal and hypophysectomized
rats after partial hepatectomy.
Canc. Res. 29, 817 - 822 (1969)
- RABES, H. und H.V. TUCZEK : Topik der DNS-Synthese nach
Teilhepatektomie.
Naturwiss. 54, 229 - 230 (1967)

- RABES, H., WRBA, H. und H. BRÄNDLE : Synthesis of deoxyribonucleic acid in the liver of hypophysectomized rats after partial hepatectomy.
Proc.Soc.exp.Biol.Med. (N.Y.) 120, 244 - 246 (1965a)
- RABES, H., WRBA, H., EDER, M. und H. BRÄNDLE : DNS-Synthese und Cytoplasmaveränderungen bei der Leberregeneration nach Hypophysektomie.
Z. Naturf. 20b, 607 - 608 (1965b)
- RABES, H., WIRSCHING, R. und H.V. TUCZEK : Dauer des Leberzellzyklus nach partieller Hepatektomie.
Naturwiss. 59, 221 - 222 (1972)
- RANCOURT, M.W. und G. LITWACK : Electron microscopic observations on the early effects of cortisol on the liver cell of the adrenalectomized rat.
Exp. Cell. Res. 51, 413 - 422 (1968)
- RAPPAPORT, A.M., BOROWY, A.J., LOUHEED, W.M. und W.N. LOTTO : Subdivision of hexagonal liver lobules into a structural and functional unit.
Anat. rec. 119, 11 - 33 (1954)
- REISS, M., DRUCKREY, H. und A. HOCHWALD : Über energetische Grundlagen endokriner Wirkungen. III. Der Einfluß der Hypophysektomie auf den Hodenstoffwechsel.
Endokrinologie. 12, 243 - 250 (1933)
- RIZZO, A.J., HEILPERN, P. und T.E. WEBB : Temporal changes in DNA und RNA synthesis in the regenerating liver of hydrocortisone treated rats.
Canc. Res. 31, 876 - 881 (1971)

- ROBERTS, K.B., FLOREY, H.W. und W.K. JOKLIK :
The influence of cortisone on cell division.
Quart. J. Exp. Physiol. 37, 239 - 257 (1952)
- ROUS, P. und L.D. LARIMORE : Relation of the portal
blood to liver maintenance.
J. Exp. Med. 31, 609 - 632 (1920)
- RUSSEL, J.A. : Hypophyseal growth hormone, nature and
action. Seite 213 ff.
hrsg: Smith, Gaebler und Leong.
McGraw Hill Book Co. Inc. N.Y. 1955
- RUSSEL, D.H. und S.H. SNYDER : Amine synthesis in rege-
nerating rat liver: Effect of hypophysectomy and
growth hormone on ornithine decarboxylase.
Endocrinology. 84, 223 - 228 (1969)
- RUSSEL, D.H., SNYDER, S.H. und V.J. MEDINA : Growth
hormone induction of ornithine decarboxylase in rat
liver.
Endocrinology. 86, 1414 - 1419 (1970)
- SAKAI, A. : Humoral factor triggering DNA synthesis
after partial hepatectomy in the rat.
Nature (Lond.). 228, 1186 - 1187 (1970)
- SCHALCH, D.S. und S. REICHLIN : Plasma GH concentration
in the rat determined by radioimmunoassay: Influence
of sex, pregnancy, lactation, anesthesia, hypophys -
ectomy and extrasellar pituitary transplants.
Endocrinology. 79, 275 - 280 (1966)

- SCHINDLER, R. : Biochemie der Regeneration.
in: Handbuch der Allgemeinen Pathologie, hrsg:
F. Büchner. S. 1 - 128
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-N.Y. (1969)
- SCHROCK, T.R., OAKMAN, N.J. und N.L.R. BUCHER :
Ornithine decarboxylase activity in relation to
growth of rat liver. Effects of partial hepatectomy,
hypertonic infusions, celite injections or other
stressful procedures.
Biochim. Biophys. Acta. 204, 564 - 577 (1970)
- SCHULTZE, B. und W. OEHLERT : Autoradiographic investi-
gation of incorporation of ³H-thymidine into cells
of different tissues of the rat and the mouse.
Science. 131, 406 - 407 (1960)
- SCRIBA, P.C. und K. SCHWARZ : Hypophthalmus und Hypo -
physe. in: Klinische Pathophysiologie S. 252 - 279
hrsg: W. Siegenthaler. Thieme Verlag, Stuttgart 1970
- SELYE, H. : Prevention of cortisone overdosage effects
with the somatotropic hormone (STH).
Am. J. Phys. 171, 381 - 384 (1952)
- SIMEK, J., ERBENOVA, Z., DEML, F. und I. DVORACKOVA :
Liver regeneration after partial hepatectomy in
rats exposed before operation to stress stimulus.
Experientia. 24, 1166 - 1167 (1968)
- SIMEK, J., HUSAKOVA, A. und F. DEML : The effect of
starvation on changes in lipid content and DNA synthe-
sis in the liver of rats after partial hepatectomy.
Physiol. Bohemoslov. 19, 101 - 106 (1970)

- SREBNIK, H.H., NELSON, M.M. und M.E. SIMPSON : Reduced growth hormone content in anterior pituitaries of rats on protein free diets.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 97 - 99 (1959)
- STEVENS, W., COLESSIDES, C. und T.F. DOUGHERTY : A time study on the effect of cortisol on the incorporation of thymidine-2-¹⁴C into nucleic acids of mouse lymphatic tissue.
Endocrinology. 78, 600 - 604 (1966)
- STÖCKER, E. : Der Proliferationsmodus in Niere und Leber.
Verh. dt. Ges. Path. 50, 53 - 74 (1966)
- STÖCKER, E. und U. PFEIFER : Zum Proliferationsmodus des Leberparenchyms nach Teilhepatektomie. Autoradiographische Untersuchungen mit Thymidin-³H
Naturwissenschaften. 52, 663 (1965)
- STÖCKER, E. und U. PFEIFER : Autoradiographische Untersuchungen mit ³H-Thymidin an der regenerierenden Rattenleber.
Z. Zellforsch. 79, 374 - 388 (1967)
- STÖCKER, E., TEUBNER, E. und S. ROSENBUSCH : Die DNS Synthese als Funktion des Alters in Leber und Niere der Ratte.
Verh. dt. Ges. Path. 48, 295 - 299 (1964)
- SUNSHINE, G.H., WILLIAMS, D.J. und B.R. RABIN : Role for steroid hormones in the interaction of ribosomes with the endoplasmic membranes of rat liver.
Nature (New Biol.). 230, 133 - 136 (1971)

- SWANN, M.M. : The control of cell division; a review.
II. Special mechanisms.
Canc. Res. 18, 1118 - 1160 (1958)
- TALEISNIK, S. : Influencia de la castracion y administra -
cion de testosterona sobre la regeneracion hepatica
consecutiva a la hepatectomia partial.
Rev. Soc. argent. Biol. 24, 87 - 92 (1953a)
- TALEISNIK, S. : Influencia de las suprarenales en el
aumento de la fosfatasa alcalina durante la regene -
racion hepatica.
Rev. Soc. argent. Biol. 24, 300 - 303 (1953b)
- TAIWAR, G.P., PANDA, N.C., SARIN, G.S. und A.J. TOLANI :
Effect of growth hormone on ribonucleic acid meta -
bolism. I.Incorporation of radioactive phosphate
into ribonucleic acid fractions of rat liver.
Biochem. J. 82, 173 - 175 (1962)
- TAIWAR, G.P., GUPTA, S.L. und F. GROS : Effect of growth
hormone on ribonucleic acid metabolism. III.Nature
and characteristics of nuclear subfractions stimula -
ted by hormone treatment.
Biochem. J. 91, 565 - 573 (1964)
- TAMM, J. : Testis. in: Klinische Pathophysiologie. S. 336 f
hrsg: W. Siegenthaler. Thieme Verlag,
Stuttgart 1970
- TEIR, H. und K. RAVANTI : Mitotic activity and growth
factors in the liver of white rat.
Exp. Cell. Res. 5, 500 - 507 (1953)

- THOMSON, R.Y., HEAGY, F.C., HUTCHISON, W.C. und
J.N. DAVIDSON : The deoxyribonucleic acid content of
the rat cell nucleus and its use in expressing the
results of tissue analysis with particular reference
to the composition of liver tissue.
Biochem. J. 53, 460 - 474 (1953)
- TOMI, M., SUZUKI, T., YASUDA, H., SEKIGUDU, H. und
F. TAKAKI : Electron microscopic studies of the liver.
Electron microscopic observation of liver cell of
rat by fasting.
Jikei Med. 8, 85 - 92 (1961)
- TRENKLE, A. : Effect of starvation on pituitary and
plasma growth hormone in rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135, 77 - 80 (1970)
- TSUKADA, K. und I. LIEBERMAN : Metabolism of nucleolar
ribonucleic acid after partial hepatectomy.
J. Biol. Chem. 239, 1564 - 1568 (1964a)
- TSUKADA, K. und I. LIEBERMAN : Synthesis of ribonucleic
acid by liver nuclear and nucleolar preparations
after partial hepatectomy.
J. Biol. Chem. 239, 2952 - 2954 (1964b)
- TSUKADA, K. und I. LIEBERMAN : Liver nuclear ribonucleic
acid polymerase formed after partial hepatectomy.
J. Biol. Chem. 240, 1731 - 1765 (1965)
- TUCZEK, H.V. : Autoradiographische Untersuchungen zur To -
pik der RNA- und DNA-Synthese in der regenerierenden
Leber.
Dissertation, München 1970

- WATANABE, M., POTTER, V.R. und H.C. PITOT : Systematic
oszillation in tyrosine transaminase and other meta-
bolic functions in liver of normal and adrenalecto-
mized rats on controlled feeding schedules.
J. Nutr. 95, 207 - 227 (1968)
- WEINBREN, K. : The portal blood supply and regeneration
of the rat liver.
Brit. J. Exp. Pathol. 36, 583 - 591 (1955)
- WEINBREN , K. : Regeneration of the liver.
Gastroenterology. 37, 657 - 668 (1959)
- WEISS, P. und J.L. KAVANAU : A model of growth control
in mathematical terms.
J. gen. Physiol. 41, 1 - 47 (1957)
- WIEBECKE, B., EDER, M. und R. HEYBOWITZ : Änderungen der
Epithelregeneration der Dünndarmschleimhaut der
Maus im Hungerzustand.
Verh. dt. Ges. Pathol. 52, 446 - 449 (1968)
- WIEDEHOLT, M., STOLTE, H., BRECHT, J.P. und K. HIERHOLZER :
Mikropunktionsuntersuchungen über den Einfluß von
Aldosteron, Cortison und Dexamethason
auf die renale Na-Resorption adrenaletomierter Ratten.
Pflügers Arch. 292, 316 - 333 (1966)
- WIDNELL, C.C. und J.R. TATA : Additive effects of thyreoid
hormone, growth hormone and testosterone on DNA-de-
pendent ribonucleic acid polymerase in rat liver
nucleus.
Biochem. J. 98, 621 - 629 (1966)

- WILLIAMS - ASHMAN, H.G., SHUTSUNG LIAO, HANCOCK, R.L.,
JURKOVITZ, L. und D.A. SILVERMAN : Testicular
hormones and the synthesis of ribonucleic acids
and proteins in the prostates gland.
Rec. Progr. Horm. Res. 20, 247 - 292 (1964)
- WILSON, J.W. : Diurnal rhythm of mitotic activity in
the liver of the mouse.
Anat. Rec. 101, 672 - 673 (1948)
- WILSON, S.H. und M.B. HOAGLAND : Physiology of rat liver
polysomes. The stability of messenger ribonucleic
acid and ribosomes.
Biochem. J. 103, 556 - 566 (1967)
- WILSON, S.H., HILL, H.Z. und M.B. HOAGLAND : Physiology
of rat liver polysomes. Protein synthesis by stable
polysomes.
Biochem.J. 103, 567 - 572 (1967)
- YU, FU LI und P. FEIGELSON : Cortisone stimulation of
nucleolar PNA polymerase activity.
Proc. Nat. Acad. Sc. 68, 2177 - 2180 (1971)

LEBENS LAUF

- Familie: Am 27.6.1944 wurde ich als Sohn des Arztes
Dr. Hans WESEMANN und seiner Ehefrau Ursula,
geb. KLÜMPER, in Göttingen geboren
- Schulzeit: 5 Jahre Volksschule in Göttingen
9 Jahre Max-Planck-Gymnasium Göttingen
Abitur 1964
- Studium: SS 1964 Psychologie-Studium in Freiburg i.Br.,
WS 1964 bis WS 1965/66 Medizin- und Psycho-
logiestudium in der Universität Göttingen,
SS 1966 bis SS 1970 Medizinstudium an der Lud-
wig Maximilians-Universität München
- Examina: Vorphysikum in Göttingen SS 1965,
Physikum in München im SS 1967,
Staatsexamen in München WS 1970/71
- Famulatur: Innere Abteilung Bethanien-Krankenhaus Berlin,
Hautklinik Berlin-Britz,
Preston Hospital Liverpool und
St. Lukes Hospital Malta
- MA-Zeit: I. Medizinische Klinik der Universität München,
Chirurgische Abteilung des Kreiskrankenhauses
Marktoberdorf,
Hautklinik der Universität München
I. Chirurgische Abteilung des Krankenhauses
München-Schwabing
- Approbation: Oktober 1972

